THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Daniel CÔME

Première thèse. — L'INHIBITION DE GERMINATION DES GRAINES DE POMMIER « PIRUS MALUS L. » NON DORMANTES. RÔLE POSSIBLE DES PHÉNOLS TÉGUMENTAIRES.

Deuxième thèse. — DONNÉES EXPÉRIMENTALES SUR LA PERMÉABILITÉ AUX GAZ DES ENVELOPPES SÉMINALES SÈCHES ET IMBIBÉES.

Soutenues le 27 avril 1967 devant la Commission d'examen.

MM. CHOUARD ..... *Président.*
CHAMPAGNAT .... } *Examinateurs.*
ULRICH ..... }

PARIS
MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120
1967

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Daniel CÔME

Première thèse. — L'INHIBITION DE GERMINATION DES GRAINES DE POMMIER « PIRUS MALUS L. » NON DORMANTES. RÔLE POSSIBLE DES PHÉNOLS TÉGUMENTAIRES.

Deuxième thèse. — DONNÉES EXPÉRIMENTALES SUR LA PERMÉABILITÉ AUX GAZ DES ENVELOPPES SÉMINALES SÈCHES ET IMBIBÉES.

Soutenues le 27 avril 1967 devant la Commission d'examen.

MM. CHOUARD ..... *Président.*
CHAMPAGNAT .... } *Examinateurs.*
ULRICH ..... }

PARIS
MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120
1967

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen ..... M. ZAMANSKY.

Janvier 1966.

PROFESSEURS

PRENANT	T	Anat. et Histol. comp.
GRASSÉ	T	Evol. des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralogie et cristallogr.
TEISSIER	T	Zoologie.
AUGER	T	Physique quant. et relat.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.
N...	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du globe.
Mlle COUSIN	T	Biol. anim. (S.P.C.N.).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
BOCQUET	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).
EPHRUSSI	T	Génétique.
GAUTHERET	T	Biol. végét. (C.P.E.M.).
LUCAS R.	T	Recherches physiques.
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire.
MORAND	T	Physique enseignement.
SOLEILLET	T	Physique (C.P.E.M.).
FORTIER	T	Mécan. expér. des fluides.
DRACH	T	Zoologie.
QUENEY	T	Météor. et dynam. atm.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biol. végét. (S.P.C.N.).
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie physique.
THELLIER	T	Physique du globe.
PONCIN	T	Mécanique générale.
DUBREUIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromolécul.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Géologie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
WIEMANN	T	Chimie org. et structur.
VASSY	T	Physique de l'atmosph.
DESTOUCHES	T	Théorie physique.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéralogie et cristallogr.
J. P. MATHIEU	T	Physique optique.
COUTEAUX	T	Cytologie.
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathémat.
SCHWARTZ	T	Calcul différ. et intégr.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (techn. aéron.).
BRELOT	T	Analyse supérieure.
NORMANT	T	Synthèse organique.
BÉNARD	T	Chimie appliquée.
DUGUÉ	T	Statistique mathémat.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiol. végétale appliq.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
Mlle LE BRETON	T	Physiol. de la nutrition.
LELONG	T	Application de l'analyse à la géométrie.
DEVILLERS	T	Anat. et histol. compar.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.).
GLANGEAUD	T	Géogr. phys. et géol. dyn.
DODEMENT	T	Mathématiques (M.G.P.).
PISOT	T	Techn. math. de la phys.
ROCH	T	Géologie.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.
TERMIER	T	Géologie générale.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
Mme TONNELA	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Electrotechnique.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies.
Mme CHAIX	T	Chimie biologique.
Mme HUREL-PY	T	Biol. végétale (C.P.E.M.).
PANNETIER	T	Chimie générale I.
BRUN	T	Mécan. des fluides I.
Mme DUBREIL	T	Mathématiques (Agrég.).
Mme LELONG	T	Mathémat. II (E.N.S.).
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.).
COTTE	T	Physique électricité.
J.-E. DUBOIS	T	Chimie organ. phys.
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.).
OLMER	T	Energétique générale.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.
BROSSEL	T	Physique atomique.
BUSER	T	Physiologie comparée.
CAMUS	T	Physiologie végétale.
CURIEN	T	Minéral. et cristallogr.
POSSOMPÈS	T	Zoologie.
PULLMANN	T	Chimie quantique.
TEILLAC	T	Phys. nucl. et radio-act.
VILLE	T	Econométrie.
WILLEMART	T	Chimie (C.P.E.M.).
FREYMANN	T	Recherches physiques.
ROLLET	T	Chimie minérale.
Mlle JOSIEN	T	Chimie (S.P.C.N.).
CHEVALLEY	T	Géométrie alg. et théor. des groupes.
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides.
G. LUCAS	T	Géologie.
ALLARD	T	Chimie physique.
BERTHELOT	T	Phys. des part. fondam.
BRICARD	T	Météorologie.
Mme ALBE-FESSARD	T	Psychophysiologie.
M. JULIA	T	Etude des molécules naturelles complexes.
MAGAT	T	Physico-chimie des rayonnements.
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie.
MONOD	T	Chimie du métabolisme.
DE POSSEL	T	Analyse numérique.
CHARLOT	T	Chimie analytique.
CHATELET	T	Chimie (C.P.E.M.).
MATTLER	T	Physique (S.P.C.N.).
BOUISSIÈRES	T	Radiochimie.
Mme COUTURE	T	Thermodyn. et méc. phys.
FRANC	T	Biol. anim. (C.P.E.M.).
SCHNELL	T	Botanique tropicale.
STOLKOWSKI	T	Physiologie générale.
ACHER	T	Chimie biologique.
BAUDOIN	T	Biol. anim. (C.P.E.M.).
BEAUMONT		Biol. anim. (S.P.C.N.).
BLAMONT		Géophysique ionosphère.
BOUREAU	T	Botanique.
D. CURIE		Physique (M.G.P.).
DURAND-DELGA	T	Géologie.
HELLER	T	Physiologie végétale.
TORTRAT	T	Calcul des probabilités.
CAILLEUX	T	Géologie (S.P.C.N.).
MAGNAN		Physique électricité.
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire.
Mlle FOURCROY		Biol. végét. (S.P.C.N.).
Mme CHOQUET-BRUHAT		Mécanique analytique et mécanique céleste.
Mlle VEIL	T	Physiologie générale.

UNIV. LEIDEN

Professeurs *(suite)*.

Lwoff	T	Microbiologie.
Siestrunck	T	Mécan. phys. et expérim.
Cabannes	T	Mécanique générale.
Caire	T	Géographie phys. et géologie dynamique.
Comolet		Mécan. des fluides.
Delloue	T	Physique de l'exosphère.
Houillon		Biol. anim. (C. P. E. M.).
Olivier		Anthropologie.
Samuel	T	Mathém. (E.N.S.) fémin.
Thiry	T	Mécanique céleste.
Abèles	T	Physique (S. P. C. N.).
Amat	T	Thermodynamique.
Auboin	T	Géologie.
Mme Benoit-Gueutal.	T	Physique nucl. et radioactivité.
Bougis		Biol. vég. marine (Villefranche-sur-Mer).
Rigaudy	T	Chimie (S. P. C. N.).
Collongues		Chimie (C. P. E. M.).
Dubert		Biochimie.
Nozières		Physique générale.
Cadiot		Chimie organique.
Ivanoff		Océanographie physique.
François		Zoologie.
Talbot		Génie chimique.
Mme Nougarède		Botanique.
Bruhat	T	Mathématique (M. P. C.).
Fournet		Electricité générale.
Deheuvels	T	Mathém. prop.
Furon	T	Géologie (S. P. C. N.).
Mme Gans	T	Génétique.
Genevès		Biologie vég. (C. P. E. M.).
Hupe	T	Pétrographie.
Hollande	T	Biologie générale.
Lions	T	Analyse numérique.
Maitte	T	Chimie organique.
Nicolas		Géologie appliquée.
Panigel		Biologie générale.
Ravier	T	Pétrographie.
Morel F.	T	Physiologie comparée.
Roseau	T	Mécan. théor. des fluides
Roubine		Electronique (E. S. E.).
Silber	T	Chimie (C. P. E. M.).
Uebersfeld	T	Electronique.
Yvon	T	Théories physiques.
Hervé	T	Mathématiques.
Mme Pecker-Wimel.	T	Astrophysique.
Balkansky		Physique (M. P. C.).
Le Corre	T	Electricité.
Nataf	T	Physique nucléaire et radioactivité.
Echalier		Biol. anim. (C. P. E. M.).
Barraud	T	Physique (C. P. E. M.).
Dars		Géologie struct. et géol. appliquée.
Camefort	T	Botanique (Agrégation).
Vichniewsky	T	Mécanique industrielle.
Sigwalt	T	Chimie (S. P. C. N.).
Blaquiere		Electronique.
Baruch		Physique propédeutique.
Arnous	T	Physique théorique.
Slonimski		Génétique.
Malliavin	T	Mathématique propédeut.
Gaudemar		Chimie propéd.
Brousse	T	Mécanique théorique.
Rosch	T	Astronomie.
Guy	T	Physique expérimentale.
Lazard		Mathématiques (M. P. C.).
Morel Pierre		Physique (M. P. C.).
Arsac		Programmation.
Lefebvre		Chimie (M. P. C.).
Bok		Physique propédeutique.
Chapeville		Biochimie.
Benoit		Physique (C. P. E. M.).
Rio		Chimie (C. P. E. M.).
Jauzein		Géologie (E. N. S.).
Prévost Georges.		Biologie vég. (C. P. E. M.).
Favard P.		Biol. anim. (C. P. E. M.).
Mme Charniaux-Cotton		Evol. des êtres organisés.
Mlle Ficini		Chimie (C. P. E. M.).
Lequeux		Astronomie.
Cohen Tannoudji.		Physique atomique.
Tavernier		Physique (C. P. E. M.).
Durand Michel		Biol. anim. (S. P. C. N.).
Pascaud		Physiologie.
Mme Petit		Biol. anim. (C. P. E. N.).
Cagnac		Physique agrég.
Falk-Vairant		Physique nucléaire.
Krasner	T	Mathématiques.
Benzecri	T	Statistiques.
Vinh Mau		Physique (M. G. P.).
Duquesnes		Physique (C. P. E. M.).
Schutzenberger		Programmation.
Tremillon		Chimie (M. P. C.).
Favard		Chimie (M. P. C.).
Buvet		Chimie (C. P. E. M.).
Authier		Physique (M. P. C.).
Picinbono	T	Physique (C. P. E. M.)
Bonnefille		Electrotechnique.
Mme Puiseux Dao.		Biologie végétale.

Secrétaire général ..... R. Poullain.

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

Janvier 1966.

PROFESSEURS

G. Mangenot	T	Biologie végétale.
P. Jacquinot	T	Optique.
A. Guinier	T	Electricité et physique des solides.
P. Grivet	T	Electronique.
A. Blanc-Lapierre	T	Accélérateur linéaire.
P. L'Héritier ...	T	Génétique des virus.
G. Lémée	T	Ecologie végétale.
A. Moyse	T	Physiologie végétale.
M. Dode	T	Chimie thermodynam.
J. Deny	T	Mathématiques.
A. Rivière	T	Géol. gén. et sédiment.
A. Michel	T	Chimie minérale.
R. May	T	Anatomie comparée.
H. Delange	T	Mathématiques.
J. Chapelle	T	Physique expérimentale.
P. Lacombe	T	Métallurgie.
P. Benoit	T	Physiologie générale.
J. Guinochet ...	T	Biol. végét. (S. P. C. N.).
A. Néron	T	Mathématiques.
R. Nozeran	T	Botanique approfondie.
R. Castaing	T	Thermodynamique.
F. Ellenberger .	T	Géologie structurale.
E. Lederer	T	Chimie biologique.
J. Rizet	T	Génétique.
T. Lender	T	Biol. anim. (S. P. C. N.).
G. Poitou	T	Mathématiques.
P. Fréon	T	Chimie organique.
Tonnelat	T	Biol. physicochimique.
Jan Brunn	T	Géologie historique.
M. Jean	T	Physique nucléaire.
J. Bergerard	T	Zoologie.
J. Roger	T	Paléontologie.
M. Lefort	T	Chimie nucléaire.
A. Lagarrigue ...	T	Phys. des hautes énerg.
J. Jullien	T	Chimie struct. organique.
A. Arnulf	T	Optique.
M. Rouault	T	Diffraction électronique.
A. Maréchal	T	Optique théor. et appl.
R. Mazet	T	Mécanique générale.
Serge David	T	Chimie agrégation.
H. Guérin	T	Chimie des gaz et des combustibles.
L. Lesieur	T	Mathématiques (M. P. C.) et algèbre.
Kourganoff	T	Astronomie.
P. Arnoult	T	Physique électronique.
J. P. Kahane	T	Mathématiques.
J. Brochard	T	Physique propédeutique.
Mme Roizen	T	Physique (C. P. E. M.).
F. Bertein	T	Electronique.
B. Malgrange ...	T	Mathématiques.
E. Corabœuf	T	Physiologie animale.
J. Friedel	T	Physique des solides.
J. Chevaugeon ..	T	Cryptogamie.
P. Meyer	T	Phys. théor. et atom.
P. Lehmann	T	Accélérateur linéaire.
R. Chabbal	T	Physique propédeutique.
J. M. Delcroix ..	T	Physique des plasmas.
J. Cerf	T	Mathématiques.
B. D'Espagnat ..	T	Physique théorique.
P. Schaeffer	T	Microbiologie.
P. de Gennes ...	T	Physique des solides.
Mme N. Marty ..		Physique propédeutique.
M. Gourdin		Physique théorique.
Perez-y-Jorba ..		Physique propédeutique.
E. Gorenflot ...		Biol. végét. (S. P. C. N.).
M. Riou		Physique nucléaire.
R. Brousse		Géologie (S. P. C. N.).
C. Lioret		Physiologie végétale.
H. Clauser		Chimie biologique.
B. Jancovici		Physique atomique.
J. Lurcat		Physique propédeutique.
J. Le Berre		Entomologie.
J. Lavorel		Biophysique.
P. Pério		Physique propédeutique.
M. Fétizon		Stéréochimie.
M. Chemla		Chimie des isotopes.
C. Mazières		Chimie (S. P. C. N.).
M. Vilkas		Chimie (C. P. E. M.).
A. Blandin		Physique des solides.
G. Brun		Génétique.
Mercouroff		Physique agrégation.
J. André		Microscopie électronique.
F. Chevallier ...		Physiologie animale.
Mlle Marcou		Biol. cellul. (C. P. E. M.).
R. Bourdu		Physiologie animale.
A. Berkaloff ...		Biol. anim. (C. P. E. M.).
Mlle M. Lefort ..		Biol. cellul. (C. P. E. M.).
Mme Lambert		Physique (C. P. E. M.).
J. C. Bizot		Physique (M. P. C.).
J. P. Guiraud ...		Mécanique.
B. Labouesse		Chimie (S. P. C. N.).

Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Paris
12e Série, Tome **VIII**, pp. 371-478.

L'INHIBITION DE GERMINATION DES GRAINES DE POMMIER (*PIRUS MALUS* L.) NON DORMANTES. RÔLE POSSIBLE DES PHÉNOLS TÉGUMENTAIRES

Par Daniel CÔME

SOMMAIRE

Introduction 374

Avant-propos 377

CHAPITRE PREMIER. — ***Définition du matériel végétal utilisé*** 381

I. — *Quelques définitions et mode d'expression des résultats de la germination* 381

II. — *Choix et utilisation du matériel végétal* 385
1° Généralités 385
2° Choix des fruits 386
3° Choix des graines et des embryons 387
4° Utilisation de ce matériel 389

CHAPITRE II. — ***Etude sommaire de la dormance embryonnaire*** 391

I. — *Quantité de froid fournie et levée de dormance embryonnaire* 391
1° Technique expérimentale 391
2° Données morphologiques 391
3° Données quantitatives 396
4° Conclusion 397

II. — *Mise en évidence du rôle des cotylédons* 397
1° Technique d'étude 398
2° Résultats 399
3° Essai d'interprétation des résultats 405

III. — *Conclusion* 406

CHAPITRE III. — ***Mise en évidence d'une inhibition tégumentaire chez les graines de Pommier prétraitées au sein des fruits*** 407

I. — *Comportement des graines extraites des fruits* 407

II. — *Comportement des graines en place dans les fruits* 408

III. — *Interprétation des résultats* 410

IV. — *Conclusion* 411

CHAPITRE IV. — ***Influence de divers facteurs sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire*** 412

I. — *Influence de la variété* 412

II. — *Influence conjuguée de la température de post-maturation et de la température de germination* 414

1° Capacité de germination 414

2° Vitesse de germination 416

3° Relation entre la capacité et la vitesse de germination 419

4° Interprétation générale des résultats 419

III. — *Influence conjuguée de la température de germination et de la durée de post-maturation à une même température* 424

IV. — *Conclusion* 424

CHAPITRE V. — ***Recherche du mécanisme de l'inhibition tégumentaire*** 426

I. — *Recherche d'inhibiteurs de germination dans les enveloppes séminales* 426

1° Méthodes d'études 426

2° Résultats 428

II. — *Recherche de substances tégumentaires pouvant intervenir dans la germination* 428

1° Fait d'observation 428

2° Caractères des extraits tégumentaires 429

3° Mise en évidence par chromatographie des phénols tégumentaires. 429

4° Essai d'identification des phénols tégumentaires 430

5° Conclusion 432

III. — *Comment les phénols tégumentaires peuvent-ils intervenir dans la germination ?* 432

1° Comportement des graines de Pommier en présence de composés phénoliques 433

2° Mise en évidence de l'oxydation des composés phénoliques au sein des enveloppes 433

IV. — *Hypothèse sur le mécanisme de l'inhibition tégumentaire* 437

1° Interprétation des faits précédents 437

2° Critique de l'hypothèse 438

CHAPITRE VI. — ***Vérification de l'hypothèse fondée sur l'oxydation des phénols.*** 440

I. — *Dosage de la phloridzine des enveloppes séminales de Pommier* 440

1° Technique de dosage 440

2° Résultats 442

3° Critique de la technique 442

4° Variation de la teneur en phloridzine des enveloppes séminales au cours de la post-maturation 447

II. — *Influence de divers traitements sur la germination des graines de Pommier* 449
1° Influence de la scarification 449
2° Influence de la teneur de l'atmosphère en oxygène 452
3° Influence du pH du milieu de culture 454
4° Influence de l'élimination des phénols tégumentaires 455

III. — *Interprétation de l'influence de la température de germination et des conditions de post-maturation sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire* 457
1° Résultats obtenus à l'aide de l'appareil de Warburg 457
2° Signification des résultats 458
3° Schéma d'interprétation 459

IV. — *Mesure de la quantité d'oxygène qui traverse une enveloppe séminale imbibée* 460
1° Technique d'étude 460
2° Résultats 464

V. — *Conclusion* 468

Conclusions générales 469

Bibliographie 471

A mes parents. A ma femme.

INTRODUCTION

La graine représente l'étape finale de l'évolution de l'ovule fécondé. L'élément essentiel en est l'embryon, généralement unique, noyé ou non dans un tissu nutritif, l'albumen ou l'endosperme. Les téguments auxquels peuvent s'associer le péricarpe sec et, éventuellement, d'autres éléments de la fleur, enveloppent et protègent l'embryon. Ce dernier est une plantule en miniature qui, après maturation de la graine, est destinée à croître pour donner naissance à une nouvelle plante lorsque la graine germe.

De très nombreuses graines ne germent pas, même quand elles sont maintenues très longtemps dans des conditions favorables à leur germination. Dès les premiers travaux sur la physiologie des graines, à la fin du siècle dernier, un problème essentiel s'est posé : A qui incombe la responsabilité de la non-germination immédiate de certaines d'entre elles, à l'embryon ou aux enveloppes ?

Très tôt également, divers procédés ont été envisagés pour hâter la germination de ces graines. C'est ainsi que beaucoup de graines ne germent normalement qu'après avoir subi, à l'état humide, un traitement de quelques mois à des températures nettement inférieures aux températures de germination. Il s'agit d'une pratique horticole très courante : la stratification. Les travaux les plus importants dans ce domaine ont été effectués par Miss Flemion (1929, 1931, 1934, 1938) et Miss Barton (1928, 1930, 1939, 1944).

En fait, les facteurs qui déterminent le maintien de la « dormance » des semences sont encore très incomplètement connus. Pour certains organes (bourgeons, tubercule de Pomme de terre), des substances inhibitrices seraient responsables de cet état (Hemberg, 1949 *a* et *b* et 1965). Dans le cas des graines, on n'accepte pas toujours le rôle joué par les inhibiteurs bien que leur présence soit bien connue (Evenari, 1940 et 1949) et que l'étude de plusieurs espèces indique l'importance physiologique de ces substances (Shuck, 1935; Borriss, 1936; Wareing et Foda, 1957).

Les travaux dans ce domaine sont innombrables et ne peuvent être rapportés ici, mais leur synthèse a été faite périodiquement par divers auteurs (Crocker, 1948; Crocker et Barton, 1953; Chouard, 1954; Toole E. H., Hendricks, Borthwick et Toole V. K., 1956; Koller, Mayer, Poljakoff-Mayber et Klein, 1962; Vegis, 1964; Amen, 1964;

Barton, 1965 *a* et *b*; Lang, 1965; Wareing, 1965; Rollin, 1966). Il ressort de ces travaux que les causes du délai de germination sont très diverses et résident soit dans l'embryon lui-même, soit dans les enveloppes. Chez certaines espèces, les semences renferment, à maturité, des embryons incomplètement développés. Le plus souvent l'embryon est morphologiquement bien développé, mais il est dormant. Les enveloppes séminales, par leur résistance mécanique à la sortie de la radicule, par leur imperméabilité à l'eau ou à l'oxygène ou par des substances inhibitrices qu'elles renferment, peuvent inhiber la germination d'embryons non dormants.

En fait, si l'on connaît les causes de la non-germination des graines et si l'on sait quels traitements appliquer à ces graines pour les rendre aptes à germer, les mécanismes profonds de la dormance embryonnaire et de l'inhibition tégumentaire sont très incomplètement connus. Nous avons essayé, dans le présent travail, de préciser le mécanisme de certaines inhibitions tégumentaires liées à une perméabilité insuffisante des enveloppes à l'oxygène. Pour cela il nous fallait choisir des graines se prêtant bien à ce genre d'étude. Le premier chapitre expose les raisons pour lesquelles notre choix s'est fixé sur les graines de Pommier et comment celles-ci ont été utilisées. Ces graines ont l'avantage de présenter une dormance propre à l'embryon et, éventuellement, une inhibition d'origine tégumentaire. Pour étudier le mécanisme de la seule inhibition tégumentaire, il était nécessaire, au préalable, d'élucider rapidement les caractères propres à la dormance embryonnaire et de savoir exactement comment on peut éliminer celle-ci. Cette étude fait l'objet du second chapitre de notre mémoire. Les quatre derniers chapitres sont consacrés à l'inhibition tégumentaire. La connaissance des voies et des modalités de passage de l'oxygène à travers les enveloppes séminales — objet de notre seconde thèse — nous a apporté des éléments indispensables à la compréhension du mécanisme de l'inhibition tégumentaire de germination des graines de Pommier.

*
**

Avant d'exposer les résultats de mes recherches, qu'il me soit permis de remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont suivi l'évolution de ce travail.

M. le Professeur Ulrich m'a accueilli dans son Laboratoire de Biologie Végétale (C. N. R. S.) à Bellevue pour y faire mes premiers pas dans la recherche et y effectuer ensuite la totalité de mon travail. Sa grande bienveillance, son amabilité extrême et son autorité scientifique ont rendu mon travail très agréable, dans une atmosphère de confiance totale. Ses encouragements presque quotidiens et le vif intérêt qu'il porte au travail de tous ses élèves, malgré les lourdes tâches qu'il assume, ont été pour moi très précieux et m'ont donné la passion de la recherche. Je le prie de vouloir bien trouver ici le témoignage de ma très vive gratitude et de ma respectueuse affection.

M. le Professeur Chouard m'a confié les fonctions d'Assistant, puis de Maître-Assistant au Laboratoire de Physiologie Végétale de la Sorbonne et m'a fait l'honneur de présider mon jury. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Je remercie M. le Professeur Champagnat d'avoir bien voulu examiner mon mémoire et de m'avoir fait part de ses suggestions.

M. Evenari, Professeur à l'Université de Jérusalem, est, en fait, à l'origine du problème que j'ai abordé. Je tiens à lui exprimer ma gratitude.

Que M. Marcellin soit assuré de ma reconnaissance pour m'avoir initié aux techniques de mesure de la perméabilité aux gaz des organes végétaux.

Mme Cahen-Herz m'a beaucoup aidé dans la réalisation technique de mon travail. Mme Daubinet a dactylographié une partie de mon mémoire. Je les en remercie bien vivement.

Je voudrais enfin exprimer ma reconnaissance à tous mes collègues et amis qui m'ont prodigué aide, affection ou sympathie. Ma femme, par sa grande compréhension et son respect de mon travail, et aussi par son aide dans la dactylographie de mon mémoire, m'a toujours apporté un concours que je ne voudrais pas oublier.

AVANT-PROPOS

Les graines de Pommier possèdent deux enveloppes facilement séparables (fig. 1). Nous les appelons « *enveloppe externe* » et « *enveloppe interne* ». L'enveloppe externe représente le tégument externe de la graine. Elle est constituée de cellules à parois lignifiées qui laissent entre elles des méats plus ou moins vastes. Les cellules épidermiques produisent vers l'extérieur une épaisse couche mucilagi-

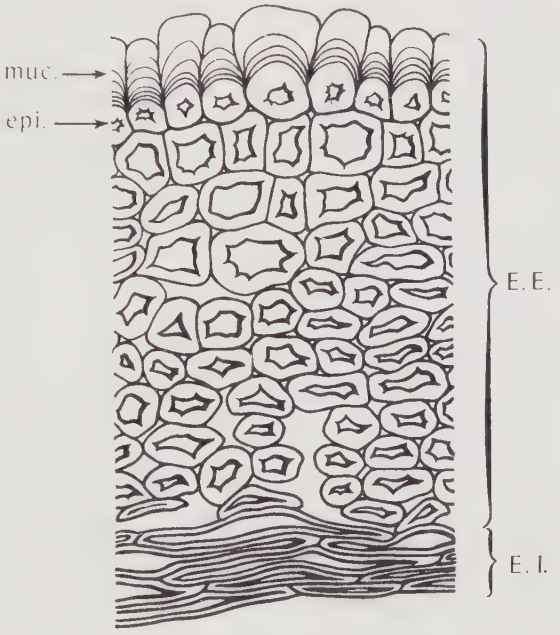

Fig. 1.

Coupe transversale des enveloppes séminales de Pommier.

E. E. : enveloppe externe ; *E. I.* : enveloppe interne ; *épi.* : épiderme ; *muc.* : mucilage (coloration au carmin-vert d'iode).

neuse où l'on observe une zonation très nette. L'enveloppe interne représente le tégument interne de la graine auquel est très étroitement associé un peu d'albumen (Pechoutre, 1902).

La technique dite de « l'effet Devaux » (Marcellin, 1960) nous a permis de mesurer la perméabilité à l'oxygène de diverses enveloppes séminales sèches (Côme, 1960 et 1961). Dans le cas des graines de Pommier, en dehors du hile, l'enveloppe interne est plus perméable à l'oxygène que l'enveloppe externe; la perméabilité à l'oxygène des deux enveloppes réunies est comparable à celle de l'enveloppe externe. La faible perméabilité de cette dernière s'explique par la présence, à sa surface, de la couche mucilagineuse épidermique. Lorsque la graine est sèche, ce n'est cependant pas l'enveloppe externe qui limite

le plus les échanges d'oxygène entre l'embryon et l'air ambiant car elle présente une large perforation au niveau du hile.

Nous avons montré, par ailleurs, que l'imbibition des enveloppes séminales a pour conséquence d'annuler la diffusion libre de l'oxygène (Côme, 1960 et 1962 *a*). *Ce gaz ne peut plus parvenir à l'embryon que par dissolution dans l'eau d'imbibition* (Côme, 1962 *b*).

Une brève étude de l'imbibition des graines de Pommier nous a fourni, en outre, quelques renseignements intéressants. Nous rapportons ici les résultats obtenus avec des graines de la variété Reinette du Mans, prélevées dans des fruits ayant séjourné 3 mois à 4°C. Les

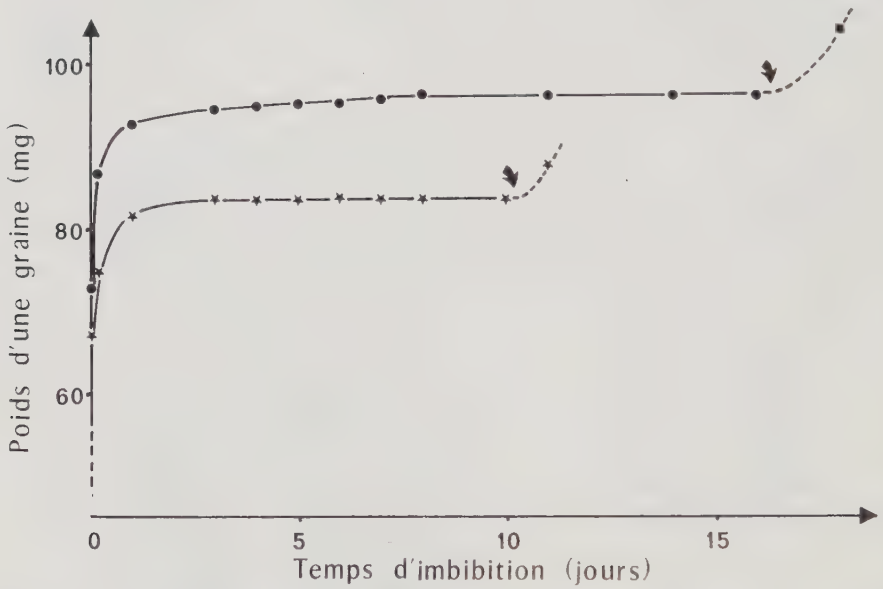

Fig. 2. — *Courbes d'imbibition de deux graines de Pommier* (var. *Reinette du Mans*).
Graines mise à imbiber à 18° C dès leur extraction de fruits traités 3 mois à 4° C.
Les flèches indiquent à quel moment se produit la germination.

graines sont pesées dès qu'elles sont extraites des fruits et placées immédiatement sur du coton humide, en boites de Pétri, à 18°C, puis pesées de temps en temps. Le type de courbes donnant la variation du poids d'une graine en fonction du temps d'imbibition est fourni par la figure 2. Ces courbes permettent de faire deux constatations.

1° Les graines absorbent 15 à 30 % de leur poids d'eau avant de germer. Il semble donc qu'après 3 mois à 4°C les fruits renferment des graines qui sont insuffisamment imbibées pour pouvoir germer au sein de ces fruits.

2° L'absorption d'eau est très rapide pendant les premières heures puis sa vitesse diminue progressivement. En quelques jours l'absorption d'eau est maximale; la graine renferme alors 90 à 92 % d'eau.

La germination survient ensuite plus ou moins rapidement; dès que la radicule a percé les enveloppes, l'absorption d'eau augmente à nouveau. Il se passe un certain temps entre le moment où l'imbibition de la graine est maximale et celui où la graine germe. Pour les graines considérées, ce temps varie de quelques jours à une quinzaine de jours. Il suffit d'enlever les enveloppes d'une graine totalement imbibée pour que l'embryon germe aussitôt, sans fixer davantage d'eau. Un embryon nu germe d'ailleurs dès que son imbibition est maximale. Comme Visser (1954), nous constatons donc que les enveloppes séminales de Pommier sont perméables à l'eau. *Puisque la germination n'exige pas un apport supplémentaire d'eau, nous pouvons affirmer que les enveloppes retardent la germination, non pas en limitant l'absorption d'eau, mais par un autre mécanisme que nous nous proposons d'étudier.*

CHAPITRE PREMIER

DÉFINITION DU MATÉRIEL VÉGÉTAL UTILISÉ

I. — QUELQUES DÉFINITIONS ET MODE D'EXPRESSION DES RÉSULTATS DE LA GERMINATION

Pour la bonne compréhension de notre exposé, il nous paraît nécessaire de définir certains termes qui ne sont pas toujours utilisés par les auteurs avec rigoureusement le même sens. Nos définitions ne seront pas acceptées par tout le monde, mais nous tenons à ce que les mots que nous utilisons aient un sens précis. Plusieurs auteurs ont d'ailleurs eu le même souci (par exemple : Evenari, 1961; Vegis, 1965; Rollin, 1965).

1° **Graines.** — Pour une commodité d'exposé, les auteurs parlent parfois de « *graines* » alors qu'il s'agit en fait de fruits du type akènes. Nous préférons donc le terme plus général de « *semences* » qui englobe les organes appelés « *unités de dispersion* » par Evenari (1961).

Dans le problème qui nous préoccupe, la confusion entre « graine » et « fruit » peut être gênante, car le fruit possède une enveloppe de plus que la graine (le péricarpe). Chez le Pommier, la semence étant une graine, nous n'aurons pas à redouter une telle confusion.

Par « *enveloppes séminales* » nous pensons, dans l'optique de notre travail, qu'il faut entendre tout ce qui entoure l'embryon : le (ou les) tégument (s) de la graine, le péricarpe et l'albumen éventuellement. Dans des cas très particuliers, d'autres éléments floraux pourront être considérés comme des enveloppes séminales; nous pensons par exemple aux glumes et glumelles des Graminées.

2° **Définition de la germination.** — Le plus souvent on considère, au laboratoire, qu'une semence est germée lorsque la radicule a percé les enveloppes ou, s'il s'agit d'un embryon nu, lorsque la radicule s'est visiblement allongée. Nous adopterons cette définition. Si celle-ci est commode, elle n'est cependant pas entièrement satisfaisante, car des embryons nus montrent parfois une croissance de l'épicotyle sans que la radicule ne se développe; nous considérons toutefois que de tels embryons sont germés, mais que leur germination est *anormale*. Une

telle difficulté se rencontre également chez les semences dont la germination commence par la croissance de l'épicotyle (voir Lang, 1965, p. 849).

Pour d'autres auteurs tels que J. F. Harrington (1962), une graine est germée lorsqu'elle a donné une plantule capable d'une croissance indépendante. C'est d'ailleurs le sens accordé par les agriculteurs au mot « germination ».

En fait, selon Evenari (1957 *a*), d'un point de vue physiologique, la perforation des enveloppes par la radicule, due à un allongement des cellules radiculaires, représente la *phase finale* de la germination. La germination *sensu stricto* commence avec l'imbibition de la semence et se termine avec le début de la croissance marquée par l'allongement de la radicule (Evenari, 1957 *a* et 1961). Evenari (1957 *a* et *b*) distingue en outre 4 phases dans la germination : une phase d'imbibition, une phase d'activation, une phase de mitoses et la phase terminale d'allongement de la radicule.

Pour Stiles et Leach (1932 et 1933), le premier signe de la germination est l'accroissement rapide de la respiration.

3° **Dormance.** — Il ressort de la littérature que le terme « dormance » est souvent ambigu. Ce terme est employé indifféremment pour désigner l'état physiologique dans lequel se trouvent une semence ou un embryon qui, bien que placés dans des conditions favorables à leur germination, sont incapables de germer. Bünning (1947) distingue deux types de dormances : les dormances dues aux facteurs externes tels que la lumière, la température, l'eau, etc., et les dormances « endogènes » conditionnées par la constitution interne de la graine. Cependant, ces deux influences — facteurs externes et facteurs héréditaires — peuvent dépendre l'une de l'autre et sont parfois difficilement séparables. *Nous préférons n'appliquer le terme de « dormance », ou mieux « dormance réelle », qu'à l'élément actif de la semence, c'est-à-dire l'embryon.* Autrement dit, la dormance est propre à l'embryon et subsiste lorsqu'on enlève les enveloppes et quand on supprime le facteur qui a provoqué la dormance. Cette définition est en accord avec celle d'Evenari (1961), mais est plus restrictive que celle de Hill et Campbell (1949) et de Chouard (1956).

Dans la dormance réelle, deux cas sont à considérer. Elle peut apparaître avant ou pendant la maturation de la semence, sans que cette semence n'ait subi un traitement préalable défavorable à sa germination; il s'agit d'une « *dormance primaire* ». Dans d'autres cas, la dormance se manifeste après que la graine ait commencé à germer (au sens d'Evenari, 1957 *a* et 1961) et est causée par certains agents externes tels que la température ou l'éclairement. Nous dirons alors que la dormance a été « *induite* » ; il s'agit d'une « *dormance induite* » ou « *dormance secondaire* ».

Il existe souvent divers degrés dans la dormance. Nous parlerons alors de « *dormance partielle* » ou de « *dormance plus ou moins*

profonde ». Les plantules obtenues à partir d'embryons partiellement dormants sont anormales et les anomalies de germination reflètent l'intensité de la dormance.

Nous pouvons désigner par « *dormance apparente* » le fait qu'une semence intacte, munie de ses enveloppes, soit incapable de germer bien que l'embryon ne soit pas dormant. Cette dormance apparente est imposée par une « *inhibition de germination* ».

4° **Inhibition de la germination.** – Toute cause de la non-germination d'un embryon non dormant produit une « *inhibition de germination* ». Celle-ci est levée quand on supprime l'agent inhibiteur. Lorsque la responsabilité de l'inhibition incombe aux enveloppes, nous parlerons « *d'inhibition tégumentaire* ».

Il n'est pas toujours possible de faire la distinction entre « dormance » et « inhibition tégumentaire », car l'embryon ne peut pas toujours être facilement dénudé. Dans le cas des graines de Pommier, les enveloppes des graines fraîches peuvent être aisément enlevées; il est donc facile de savoir si la non-germination d'une graine tient à l'embryon ou aux enveloppes. A ce point de vue, les graines des Rosacées constituent un excellent matériel (Flemion, 1955).

En fait, tout au long de notre travail, nous avons gardé présente à l'esprit l'idée que, dans une semence c'est l'embryon qui germe. Les enveloppes, à l'exception de l'albumen qui a un rôle nutritif, ne font que protéger l'embryon et limiter sa germination qui, sans elles, risquerait parfois de se produire dans des conditions défavorables à la croissance ultérieure de la jeune plantule. Autrement dit, toute notre étude du rôle des enveloppes dans la germination des graines de Pommier a pour but de comprendre ce qui se passe au niveau de l'embryon.

5° **Post-maturation.** — Il s'agit de changements physiologiques se produisant dans la semence après sa maturation, ces changements rendant la semence apte à germer. Le plus souvent, la post-maturation n'est possible que dans des conditions bien définies de température et d'humidité. Elle correspond à une levée de dormance embryonnaire ou à une levée d'inhibition tégumentaire. Cette post-maturation est très progressive, de sorte qu'un embryon ayant subi une post-maturation insuffisante germe de façon anormale.

6° **Prétraitement.** — C'est le traitement qui permet à la semence de subir sa post-maturation.

7° **Pouvoir germinatif.** — Il s'exprime par le pourcentage de semences aptes à germer dans les conditions les plus favorables à leur germination. Une semence a perdu son pouvoir germinatif lorsqu'elle est incapable de germer, quels que soient les conditions de germination et les traitements auxquels on la soumet.

8° **Capacité de germination** (germinabilité). — C'est le pourcentage de semences capables de germer dans des conditions bien définies. Lors-

qu'on parle de « capacité de germination » il faut donc préciser très clairement les conditions de germination et les traitements préalables subis par les semences.

9° **Vitesse ou énergie de germination.** — Comme Lang (1965), nous considérons que c'est le temps mis par les semences pour germer. Nous pouvons l'exprimer de plusieurs façons :

a) Par le pourcentage de semences germées au bout d'un certain temps après l'ensemencement.

b) Par le temps nécessaire pour atteindre 50 % de la capacité de germination.

c) Par le « *coefficient de vélocité* » de Kotowski (1926) qui s'exprime par l'intégration des temps de germination de chaque graine :

$$C.\ V. = \frac{\Sigma\ n}{\Sigma\ (n.\ J_n)} \cdot 100$$

où n est le nombre de semences germées le jour J_n et J_n le nombre de jours après l'ensemencement (le jour de l'ensemencement étant pris comme temps 0).

Pratiquement, lorsque nous avons adopté ce mode d'expression de la vitesse de germination, nous avons procédé comme J. F. Harrington (1962), en calculant :

$$\frac{N_1 T_1 + N_2 T_2 + N_3 T_3 \ldots + N_n T_n}{N_1 + N_2 + N_3 \ldots + N_n}$$

où N_1 est le nombre de semences germées au temps T_1, N_2 le nombre de semences qui ont germé entre le temps T_1 et le temps T_2, etc. Cette formule donne le temps moyen nécessaire à la germination des semences étudiées et représente l'inverse $\times$ 100 du « coefficient de vélocité » de Kotowski.

d) Timson (1965) propose d'exprimer l'énergie de germination par la somme $\Sigma 10$ des taux de germination observés pendant les dix premiers jours.

10° **Certitude des résultats.** — La nature même de notre matériel fait qu'aucune des expériences de germination n'a pu être conduite sur un nombre suffisant de graines ou d'embryons pour qu'une étude statistique des résultats soit possible car, comme le signale Rollin (1963), l'unité, dans les calculs statistiques, ne peut pas être représentée par une graine mais par un lot de graines. Nous devons donc admettre, comme l'a prouvé Rollin avec les semences qu'il utilise, que dans une même population de graines soumises aux mêmes traitements, celles qui se comportent différemment de l'ensemble sont réparties au hasard.

Nos essais de germination ont été effectués sur des lots de 100 graines ou embryons (parfois 50 pour les embryons dont le comportement est toujours plus homogène que celui des graines intactes) et ont été répétés au moins 2 ou 3 fois.

II. — CHOIX ET UTILISATION DU MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les graines de Pommier se sont avérées constituer un excellent matériel car, à la récolte des fruits, les embryons des graines qu'ils renferment sont dormants, et nous verrons que l'on peut provoquer à volonté l'apparition d'une inhibition tégumentaire d'intensité variable. Mais une rapide étude bibliographique nous a montré qu'il était nécessaire de choisir avec soin les graines que nous nous proposons d'étudier.

1° Généralités.

En dehors des facteurs internes propres à chaque espèce ou variété, de nombreux facteurs extérieurs, parfois difficilement contrôlables, peuvent intervenir, avant ou après la récolte des graines, pour modifier leur comportement au germoir (voir Barton, 1965 *a*). Quelques exemples vont nous montrer l'importance de ces facteurs.

1° **Conditions avant récolte.** — *a)* Origine géographique des graines. — Selon l'origine géographique des graines d'arbres fruitiers, la durée de stratification et la température à laquelle on l'effectue varient (Likhonos, 1959). Des graines de *Pinus silvestris* (Eliason et Heit, 1941) et de *Fraxinus excelsior* (Varasova, 1956) de provenance différente sont dans des états de dormance notablement différents.

b) Origine du pollen. — Elle peut avoir une action perceptible sur les besoins de post-maturation des graines de Pommier (Abramov, 1955; Schander, 1956) et sur le taux de germination des variétés polyploïdes (Aubertin, 1959).

c) Influence de l'espèce. — Dans le genre *Acer* (Jones, 1920; Yudin, 1956) et le genre *Quercus* (Korstian, 1927), les graines de certaines espèces sont dormantes alors que celles d'autres espèces ne le sont pas.

d) Conditions climatiques. — Voisenat (1957) signale que les semences des Céréales sont généralement peu dormantes quand la récolte s'est effectuée dans des conditions climatiques normales, mais qu'un temps froid et pluvieux peut considérablement ralentir la germination.

e) Position des graines sur la plante-mère et dans le fruit. — Paunović (1962) a étudié l'influence de onze facteurs différents sur la longueur de la dormance et la germination des graines de Pommiers et d'autres arbres fruitiers croissant en Yougoslavie. L'âge des arbres et les récoltes successives de fruits n'ont pas d'effet sur la germination.

Par contre, ce sont les graines provenant des fruits développés au sommet de l'arbre qui germent le mieux. Quand les fruits d'*Arachis hypogæa* renferment deux graines, la graine basale est toujours plus dormante que la graine apicale (Toole V. K., Bailey et Toole E. H., 1964).

f) Taille des graines. — Chez certaines variétés de Pommier et de Poirier, les graines plus lourdes germent mieux et donnent les plantules les plus vigoureuses (Schander, 1952). Chez le *Pinus strobus*, par contre, ce sont les graines de taille moyenne qui germent le mieux (Wright, 1945). Les akènes de *Cnicus benedictus* les plus lourds manifestent le plus tardivement leur énergie germinative (Lalaurie, 1957).

g) Date de la récolte. — Bien des semences sont notablement moins dormantes à l'état immature (Bytschikhina, 1930; Gill, 1938; Pope et Brown, 1943; Jahnel et Zentsch, 1961). Rémy (1961) observe que les embryons du genre *Prunus* subissent dans le fruit une première maturité qui les conduit à un état bien différencié mais dormant. Une seconde maturité physiologique est acquise à la suite d'un traitement de post-maturation par les températures basses; ce traitement ne peut affecter un embryon que s'il a atteint le stade de première maturité.

2° **Traitement après récolte.** — Les exigences thermiques de certaines semences pour leur germination varient beaucoup avec leur âge (Barton, 1936; Toole E. H. et Toole V. K., 1941).

Certaines semences, et en particulier celles de Pommier, voient leurs besoins de post-maturation au froid réduits, mais non entièrement éliminés, par une conservation préalable au sec (Crocker et Barton, 1931).

De brèves périodes de séchage, pendant ou après la post-maturation au froid humide, peuvent annuler complètement l'effet de cette post-maturation chez les graines de Pommier et d'autres espèces (Haut, 1932; Evenari, Konis et Zirkin, 1947 et 1948).

Pour toutes les raisons exposées ci-dessus, nous avons choisi avec soin les fruits et les graines qu'ils renferment.

2° *Choix des fruits.*

Nous avons utilisé des fruits ayant toujours la même provenance et récoltés à la date normale, vers le 15 octobre. Des essais préliminaires, portant sur une dizaine de variétés, nous ont permis de choisir trois d'entre elles dont les graines montrent des différences sensibles dans leurs besoins de post-maturation et dans leur comportement au germoir.

Les fruits de la variété Reinette de Caux proviennent de la Coopérative Fruicaux à Yvetot (Seine-Maritime). Ceux de la variété Stayman

Winesap ont été aimablement fournis par M. Planta de Wildenberg à Sainte-Corneille (Sarthe) et ceux de la variété Reinette du Mans ont été récoltés à la Ferme expérimentale de Thorée-les-Pins (Sarthe). Nous n'utilisons que des fruits triés et calibrés (calibre 65/70). Malgré ces précautions, nous avons enregistré de faibles variations dans le comportement des graines d'une récolte à l'autre, mais ces variations ne modifient pas fondamentalement les phénomènes étudiés.

3° Choix des graines et des embryons.

Des trois variétés de Pommes choisies, deux d'entre elles sont des variétés diploïdes (Reinette du Mans et Reinette de Caux) et la troisième est une variété triploïde (Stayman Winesap). Dans une même variété, le poids des graines et des embryons varie assez considérablement (fig. 3). Les deux variétés diploïdes renferment très peu de graines avortées. La variété Stayman Winesap, par contre, possède de très nombreuses graines « vides » ou à embryons très rudimentaires. Les embryons de poids inférieur à 10 mg ne sont pas viables dans nos conditions expérimentales.

1° **Variétés Reinette du Mans et Reinette de Caux.** — La distribution des fréquences observées avec les graines des variétés Reinette du Mans et Reinette de Caux et leurs embryons semble être une distribution normale (fig. 3). La normalité de ces distributions a été précisée grâce au test χ^2 de Pearson (tableau I).

Seule la population d'embryons de la variété Reinette du Mans est *normalement distribuée*. Dans cette variété, ce sont donc les enveloppes séminales qui font que la distribution des graines n'est pas normale. Dans la variété Reinette de Caux, au contraire, les embryons et les graines ne sont pas normalement distribués.

Ces résultats tiennent peut-être au fait que nous n'utilisons pas tous les fruits d'un même arbre, mais seulement les fruits de calibre 65/70, ces fruits provenant d'ailleurs de divers arbres.

Dans nos expériences de germination, nous avons éliminé les embryons de poids inférieur à environ 20 mg et les graines de poids inférieur à environ 45 mg. L'étude de la germination des graines et des embryons en fonction de leur poids, faite dans diverses conditions de température et de traitement des graines, nous a en effet montré que les graines et les embryons les plus petits germaient généralement moins bien.

2° **Variété Stayman Winesap.** — Les graines et les embryons de cette variété n'ont pas du tout une distribution normale (fig. 3). Les graines totalement « vides » n'ont pas été pesées et ne figurent donc pas sur le graphique. Il semble, surtout dans le cas des embryons, que la distribution soit bimodale; ceci peut sans doute s'expliquer par l'existence,

dans cette variété triploïde, de graines diploïdes et de graines triploïdes. Les embryons de poids inférieur à environ 25 mg, et les graines correspondantes qui sont plates à leur extrémité opposée à la radicule, ont été systématiquement éliminés de nos essais.

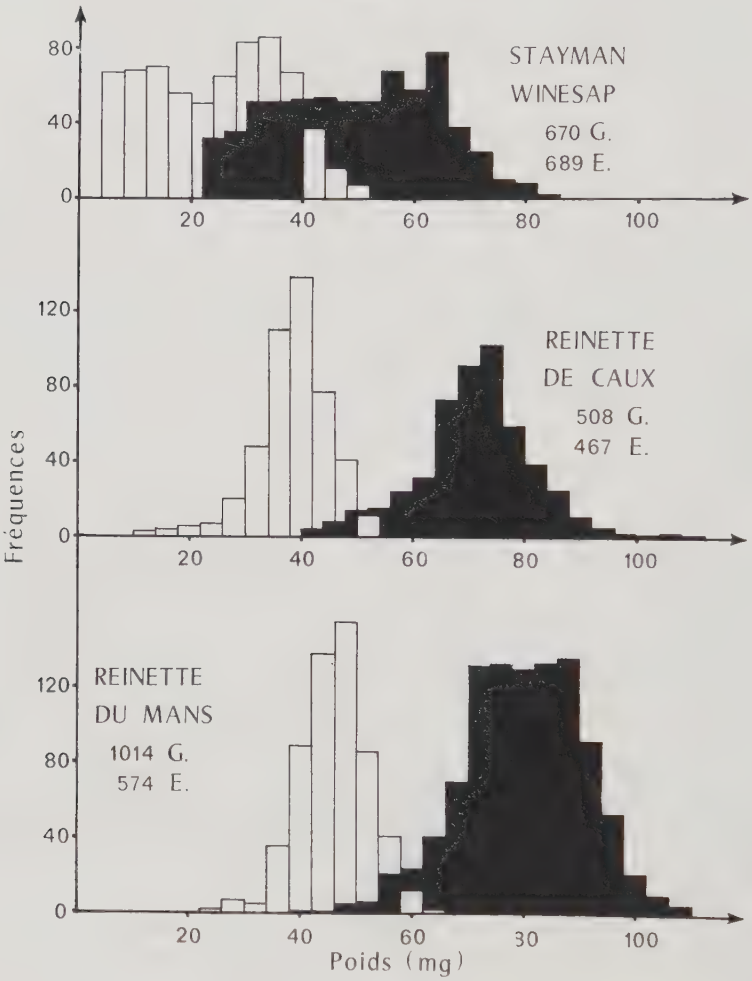

FIG. 3. — *Distribution des graines* (en noir) *et des embryons* (en blanc), *en fonction de leur poids.*
G. : graines; *E* : embryons.

Certains embryons possèdent 3 ou parfois 4 cotylédons. Leur comportement ne diffère pas des embryons normaux dicotylédonés; dans certaines expériences, cependant, ces embryons ont été éliminés.

Les fruits et les graines ainsi sélectionnés ont été utilisés dans des conditions bien définies.

Tableau I. — Différence entre la distribution réelle et la distribution théorique ayant les mêmes paramètres.
NS : non significative; S : significative; HS : hautement significative.

Nature de l'échantillon		Nombre de mesures (N)	Moyenne ($\bar{x}$)	Ecart-type (σ)	χ^2	Degré de liberté (D. L.)	Probabilité (P)	Différence
Reinette du Mans	Graines ...	1 014	79,9	10,9	24,75	12	$0,01 < P < 0,02$	S
	Embryons..	574	46,1	6,2	2,66	5	$0,70 < P < 0,85$	NS
Reinette de Caux	Graines ...	508	71,2	10,4	36,86	10	$P < 0,0025$	HS
	Embryons..	467	38,7	6,8	26,07	5	$P < 0,0025$	HS

4° *Utilisation de ce matériel.*

1° **Prétraitement des graines.** — Nos études de post-maturation des graines de Pommier ont porté sur les graines extraites des fruits et sur les graines laissées en place dans leurs fruits.

a) Post-maturation hors des fruits. — Dès la récolte des fruits, les graines (ou leurs embryons) sont extraites et mises immédiatement sur du coton humide, en boîtes de Pétri placées aux températures désirées.

b) Post-maturation au sein des fruits. — Les fruits sont placés en caisses, *dès la récolte,* aux températures voulues. Le fait d'abandonner ces fruits un certain temps à la température ambiante peut influencer le comportement ultérieur des graines qu'ils renferment.

2° **Réalisation des essais de germination.** — Certaines expériences de Solov'ev (1961) ayant montré que la germination des graines de Cotonnier pouvait être influencée par l'épaisseur du papier filtre utilisé et le degré d'humidification de ce papier, nos essais de germination ont toujours été réalisés dans des conditions aussi identiques que possible. Ils sont effectués en boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre, sur la même épaisseur de coton imbibé de la même façon d'eau distillée dont le pH est toujours voisin de 5. Chaque boîte de Pétri renferme 25 graines ou embryons qui ne sont jamais séchés avant leur ensemencement. Des essais préliminaires nous ont en effet montré qu'une période de séchage relativement courte pouvait réduire la capacité de germination des graines intactes. La figure 4 fournit les résultats obtenus avec des graines et des embryons ayant subi une post-maturation à 0° C au sein

des fruits puis abandonnés à sec, au laboratoire, pendant des temps variables avant d'être mis à germer à 18° C.

La germination a lieu dans des chambres maintenues à température constante, à l'obscurité ou sous un éclairage très faible. Nous avons

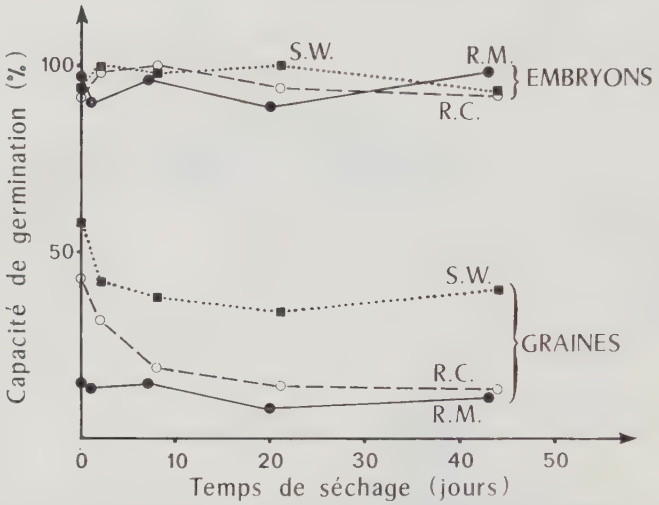

Fig. 4. — *Influence de la durée du séchage des graines prétraitées au sein des fruits, sur la capacité de germination à 18° C de ces graines et de leurs embryons.*

S. W. : *Stayman Winesap* : fruits 95 jours à 0° C.
R. C. : *Reinette de Caux* : fruits 95 jours à 0° C.
R. M. : *Reinette du Mans* : fruits 110 jours à 0° C.

constaté que, dans nos conditions expérimentales, l'éclairement n'a pas d'influence sur la germination de nos graines.

Les graines n'ont jamais été stérilisées, car la stérilisation peut entraîner des modifications au niveau des enveloppes et perturber les phénomènes étudiés. D'autre part, les graines et les embryons qui germent bien moisissent rarement.

CHAPITRE II

ÉTUDE SOMMAIRE DE LA DORMANCE EMBRYONNAIRE

Lors de la récolte des pommes, les embryons des graines qu'elles renferment sont parfaitement développés mais dormants. Leur germination normale ne peut être obtenue qu'après une période de post-maturation au froid humide (Harrington G. T. et Hite, 1923; Pammel et King, 1926; Adams, 1927; Crocker, 1928; Flemion, 1934; Barton, 1939 et 1940; Evenari, Konis et Zirkin, 1947; Abbott, 1955).

Nous avons d'abord cherché à savoir quel est le comportement des embryons de Pommier en fonction des conditions thermiques de prétraitement. La recherche des causes de la dormance a été esquissée ensuite.

I. — QUANTITÉ DE FROID FOURNIE ET LEVÉE DE DORMANCE EMBRYONNAIRE

1° Technique expérimentale.

Des graines et des fruits ont été traités à diverses températures (0, 4, 7, 12, et 18° C) pendant des temps variables. On sait que la post-maturation des graines est possible au sein des fruits conservés au froid (Harrington G. T. et Hite, 1923; Schander, 1956). Périodiquement, des graines sont décortiquées et leurs embryons sont mis à germer à plat sur un cotylédon, à la température de 18° C.

2° Données morphologiques.

1° **Germination normale** (fig. 5). — Lorsque l'embryon a subi une post-maturation suffisante pour ne plus être dormant, sa germination est rapide. Elle commence par un allongement de la radicule qui se recourbe tout de suite vers le milieu de culture *(2)*. Les cotylédons s'écartent progressivement alors que la racine croît et qu'apparaissent les poils absorbants *(3)*. La racine pénètre dans le milieu de culture et

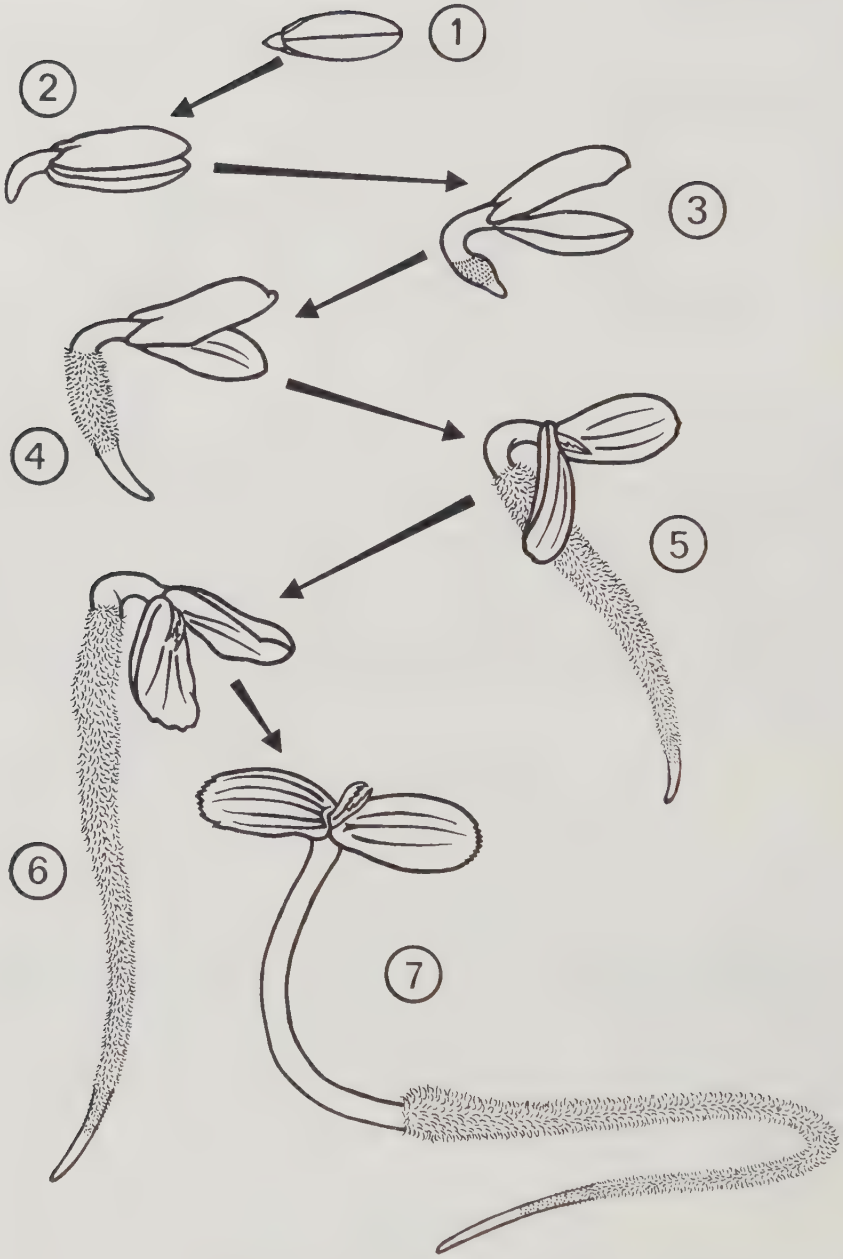

Fig. 5. — *Germination normale des embryons non dormants.*

se couvre uniformément de poils absorbants (*4*, *5*, et *6*). Les cotylédons s'étalent et verdissent. L'hypocotyle croît en soulevant les cotylédons complètement étalés *(7)*. L'épicotyle se développe ensuite.

La vitesse de germination est en général plus grande dans les variétés

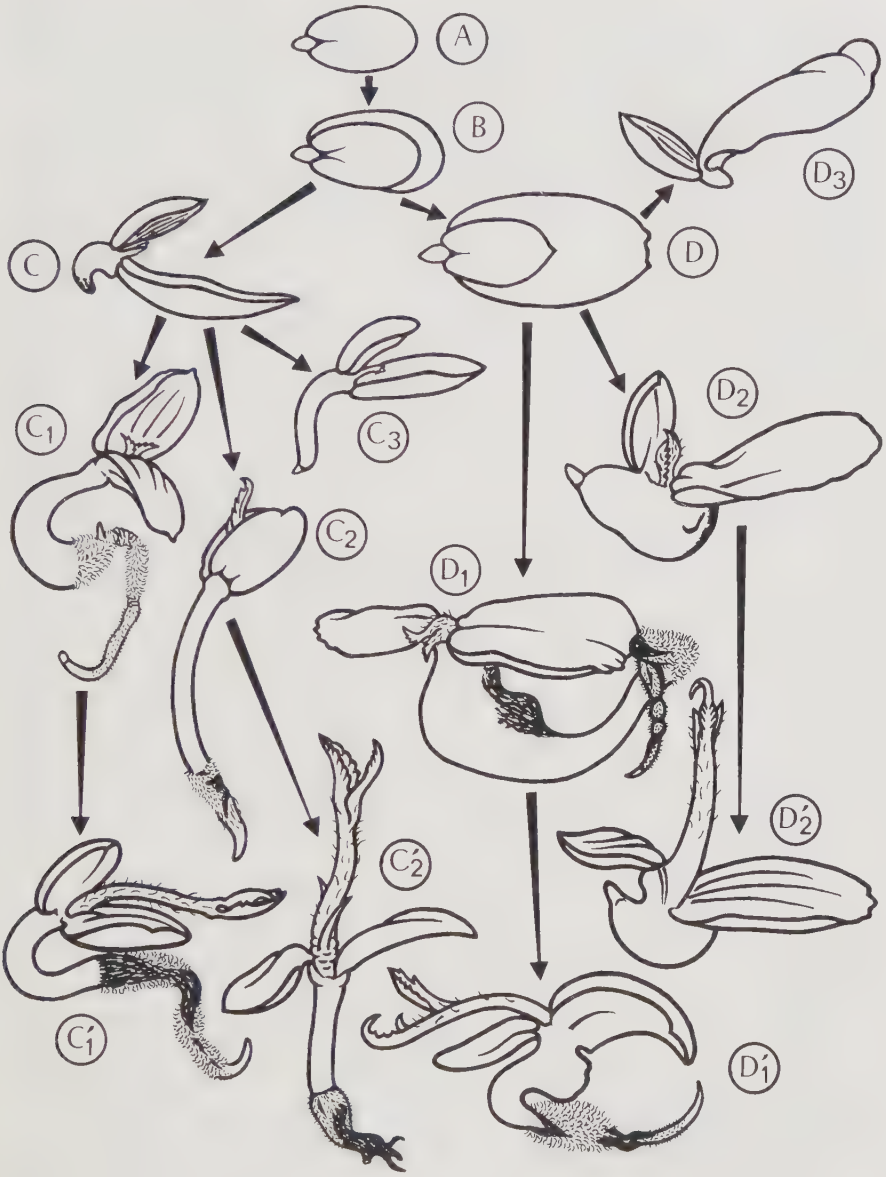

Fig. 6. — *Germination anormale des embryons dormants.*

Stayman Winesap et Reinette de Caux, où les premières germinations apparaissent un jour après l'ensemencement, que dans la variété Reinette du Mans où les embryons ne manifestent leur germination que 2 ou 3 jours après l'ensemencement. La croissance des plantules est également rapide; le stade 7 de la figure est atteint en 4 à 6 jours.

2° **Germination anormale** (fig. 6). — Alors que les embryons de *Sorbus aucuparia* non traités par le froid humide sont totalement incapables de germer (Flemion, 1931), les graines de nombreuses espèces ne montrent qu'une dormance « partielle ». Leurs embryons sont capables de germer sans traitement préalable par le froid humide ou après un traitement insuffisant, mais ils donnent naissance à des plantules anormales souvent dites « naines » et à croissance paresseuse. Tels sont les embryons de Pommier (v. Veh, 1936 et 1939; Nihous, 1939; Abbott, 1955; Visser, 1956 *c*). Tukey et Carlson (1945 *a* et *b*) signalent en outre que, si les embryons de Pêcher sont isolés des graines au cours de la stratification, le degré de nanisme des plantules obtenues décroît lorsque la durée de stratification augmente. Abbott (1955) et Visser (1956 *c*) relèvent le même fait chez le Pommier. Le nanisme des plantules est donc une expression de la dormance.

Dans notre cas, la dormance est plus intense chez la variété Reinette du Mans que chez la variété Reinette de Caux et surtout la variété Stayman Winesap. Si le prétraitement n'a pas été suffisant, ou s'il a été effectué à température trop élevée, les embryons donnent naissance à des plantules dont le degré d'anomalies varie avec l'état de dormance. La figure 6 groupe les principales anomalies enregistrées lorsque de tels embryons sont mis à germer à 18° C.

Un embryon dormant *(A)* ne germe pas immédiatement. Le cotylédon qui se trouve au contact de l'eau grandit et verdit si l'essai de germination a lieu à la lumière; le cotylédon supérieur ne grandit pas et reste blanc *(B)*. Miss Flemion (1931) a fait cette même observation chez le *Sorbus aucuparia* et pense que l'eau circule mal d'un cotylédon à l'autre. A partir de ce stade *B*, nous avons distingué trois cas chez le Pommier.

1° Si l'embryon n'est pas trop dormant, la radicule s'allonge et se recourbe vers le milieu de culture *(C)*. L'hypocotyle s'allonge lentement alors que le système radiculaire est plus ou moins atrophié. En C_1, la racine porte des poils absorbants d'une façon irrégulière et présente des zones liégeuses plus ou moins nécrosées. L'épicotyle peut se développer (C'_1) sans que le système radiculaire n'évolue.

La racine peut être plus atrophiée encore (C_2), ce qui donne des plantules avec épicotyle et hypocotyle à peu près normaux, mais avec un système radical entièrement nécrosé (C'_2).

Dans certains cas (C_3), la racine ne se développe pas du tout; l'hypocotyle seul s'allonge.

2° Si l'embryon est plus intensément dormant, le cotylédon placé au contact de l'eau continue à croître et devient très vert *(D)*. La plantule à laquelle il donne naissance après quelques semaines au germoir est encore plus anormale que précédemment. L'hypocotyle est hypertrophié et la racine très réduite et nécrosée (D_1), mais l'épicotyle peut croître (D'_1). Dans certains cas même, la racine ne se développe pas du tout et l'hypocotyle est très court (D_2); l'épicotyle se développe cependant (D'_2)

Dans ces deux premiers cas, la dormance porte donc essentiellement sur le système radiculaire et hypocotylaire. Flemion et Waterbury (1945) ont montré, par des expériences de greffage conduites sur des plantules naines de Pêcher, que, dans cet exemple, c'est au contraire la tige qui est dans un état de nanisme. Les racines sont parfaitement développées et permettent la croissance normale de tiges de plantules normales greffées sur elles; des tiges naines greffées sur des racines de plantules normales restent naines. Selon les espèces, l'état de dormance peut en effet concerner soit la radicule, soit l'épicotyle, soit la totalité de l'embryon (Barton, 1944).

3° Dans les cas d'extrême dormance, l'embryon reste au stade *D*, les cotylédons pouvant tout au plus s'écarter (D_3), sans que l'épicotyle ne croisse. Les embryons de Pommier Yellow Transparent ont un comportement de ce type (Zagaja et Czapski, 1962).

Tableau II. — Anomalies les plus couramment rencontrées chez les plantules de Pommier (var. *Reinette du Mans*) issues d'embryons prétraités au sein des fruits et mis a germer a 18° C.

Pour la signification des anomalies, se reporter à la figure 6.

Durée	Température de traitement			
	0° C	4° C	7° C	12° C
Récolte.	D et D_3			
15 jours.	C_1 et C_2, rarement D_1.	C_1 et C_2, rarement D_1.	D_1 et D_2.	D, D_2 et D_3.
1 mois.	C_1 et C_2, plus rarement.	C_1 et C_2, plus rarement.	C_1, C_2 et C_3.	D, D_1, D_2 et D_3.
1 mois et demi.	Très rarement C_1.	Très rarement C_1.	C_1 et C_2.	D, D_1, D_2, D_3 et C_3, rarement C_2.
2 mois.	Toutes normales.		C_1, rarement C_2.	D, D_1, D_2, D_3 et C_3, rarement C_2.
3 mois.	Toutes normales.		C_1 et C_2, très rarement.	D, D_1, D_2, D_3, C_3 et C_2, rarement C_1.
4 mois.	Toutes normales.			D, D_1, D_2, D_3, C_3, C_2 et C_1.

Le tableau II résume les anomalies le plus couramment rencontrées chez les plantules de Pommier (variété Reinette du Mans) issues d'embryons prétraités au sein des fruits et mis à germer à 18° C.

Nous n'avons pas étudié le développement de ces plantules au-delà du stade indiqué par la figure 6, mais il a été montré que l'état nain

des plantules de Pêcher et de *Rhodotypos* persiste longtemps; on peut encore l'observer au bout de 10 ans (Flemion, 1959). Ces anomalies ne se rencontrent jamais avec les graines intactes, car celles-ci ne germent que si leurs embryons ne sont pas dormants. Toutes les plantules obtenues sont alors normales.

Les plantules naines sont elles-mêmes dormantes puisque leur croissance normale est possible si elles sont soumises au froid (Lammerts, 1942).

3° Données quantitatives.

Nous avons déterminé les pourcentages d'embryons capables de germer normalement à 18° C, en fonction de la température et de la durée de post-maturation. La figure 7 schématise les résultats obtenus avec

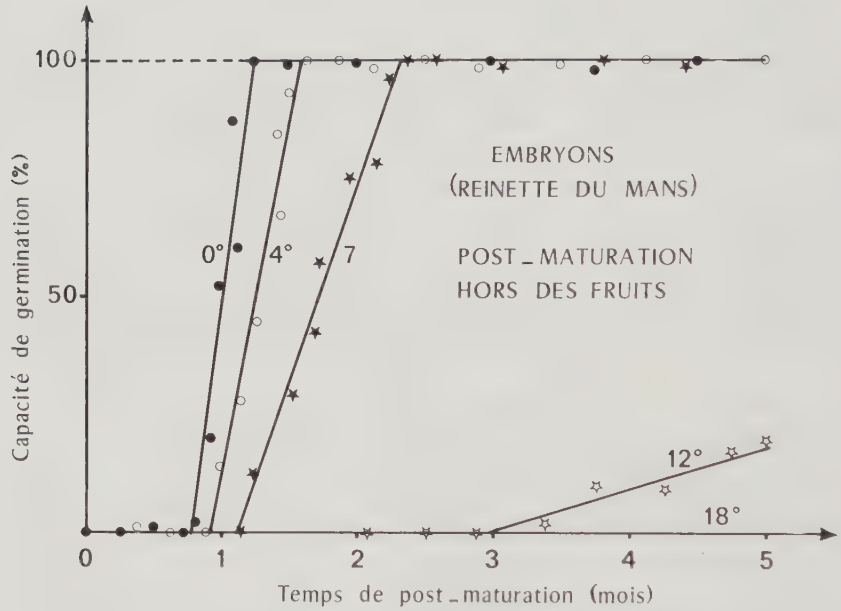

Fig. 7. — *Influence de la température et de la durée de post-maturation sur la capacité de germination à 18° C des embryons* (var. *Reinette du Mans*) *prétraités hors des fruits.*

les embryons de graines de Pommier (variété Reinette du Mans) ayant subi leur post-maturation hors des fruits.

— Le temps de post-maturation nécessaire à l'apparition des premières germinations normales est d'autant plus court que la température de traitement est plus basse.

— Le temps de prétraitement à une même température, qui sépare l'apparition des premières germinations de la germination de la totalité

des embryons, est d'autant plus court que la température à laquelle les embryons ont été soumis est plus basse.

— Quelques embryons peuvent germer après plus de 3 mois à 12° C. Aucun embryon maintenu constamment à 18° C ne germe normalement.

4° Conclusion.

La levée de dormance est d'autant plus rapide que la température de post-maturation est plus basse. De tels résultats ont été obtenus par Miss Flemion (1931) sur *Sorbus aucuparia.* On enregistre quelques variations d'une récolte à l'autre et d'une variété à l'autre, mais le phénomène reste le même. En particulier, les embryons des variétés Reinette de Caux, et surtout Stayman Winesap, voient leur dormance levée plus rapidement que ceux de la variété Reinette du Mans.

Dans le cas d'embryons prétraités au sein des fruits, les courbes obtenues sont très comparables aux précédentes. La levée de dormance est seulement légèrement plus lente au sein des fruits qu'à l'extérieur de ces fruits pour des conditions de post-maturation identiques. La quantité de froid nécessaire à la levée de dormance est donc pratiquement la même dans les deux cas.

La post-maturation des embryons de Pommier est donc possible au sein de leurs fruits, bien qu'ils ne soient pas complètement imbibés. Mais on sait que la quantité d'eau d'imbibition exigée par la post-maturation des graines est inférieure à celle qui est nécessaire à la germination (Stone, 1957; Simak et Gustafsson, 1957 et 1959).

II. — MISE EN ÉVIDENCE DU RÔLE DES COTYLÉDONS

Les causes de la dormance embryonnaire restent encore assez mystérieuses. La levée de dormance implique certainement une variété de transformations physiologiques subtiles qu'on ne comprend qu'imparfaitement. De nombreux auteurs s'accordent à penser que la dormance embryonnaire est liée à la présence d'inhibiteurs de croissance dans l'embryon lui-même (Popcov et Buch, 1960; Villiers et Wareing, 1960). En fait, à côté des substances inhibitrices, les graines renferment aussi plusieurs auxines (Mimault, 1957; Luckwill, 1957; Pilet et Mimault, 1959; Rémy, 1961). Si, dans certains cas, la levée de dormance coïncide avec la disparition des inhibiteurs (Lasheen et Blackhurst, 1956), elle est le plus souvent marquée par une modification du rapport auxines/inhibiteurs (Luckwill, 1957; Yoshida, 1960; Rémy, 1961; Jennings et Tulloch, 1965), de sorte que la capacité de

germination serait liée à une interaction entre inhibiteurs et promoteurs de croissance.

Pour Luckwill (1952), trois processus interviendraient dans la postmaturation des graines de Pommier :

— Disparition des inhibiteurs de croissance de l'albumen et de l'embryon.

— Libération dans le milieu extérieur des inhibiteurs des téguments.

— Formation de promoteurs dans l'embryon. Ce serait là le facteur essentiel de la levée de dormance.

Les travaux de Bulard et Monin (1960 *a* et *b*, 1963) sur les embryons dormants d'*Evonymus europæus* et *Fraxinus excelsior* ont mis en évidence le rôle joué par les cotylédons dans la dormance embryonnaire. La dormance est très accusée lorsque les cotylédons sont imbibés au contact du milieu de culture alors que la germination est possible si les cotylédons sont supprimés ou s'ils n'ont aucun contact avec le milieu de culture. Ces auteurs pensent que des inhibiteurs sont produits lors de l'imbibition directe des cotylédons. Chez le Pêcher, l'ablation des cotylédons entraîne une croissance normale des embryons non stratifiés (Flemion, 1956) et l'addition d'extraits d'embryons non stratifiés au milieu de culture tend à induire une croissance naine des plantules (Flemion et Prober, 1960).

Nous avons recherché si, comme dans les exemples précédents, ce sont aussi les cotylédons qui sont responsables de la dormance des embryons de Pommier.

1° Technique d'étude.

L'expérimentation porte sur des embryons dormants et des embryons non dormants de la variété Reinette du Mans et les essais de germination ont lieu à 18° C. Deux séries d'expériences ont été entreprises :

— ou bien on procède, à l'aide d'une lame de rasoir, à des ablations plus ou moins importantes des cotylédons et les embryons sont ensemencés à plat sur un cotylédon (ou sur ce qui reste de ce cotylédon) ;

— ou bien les embryons, dont les cotylédons ont été ou non sectionnés, sont ensemencés dans des positions variables.

1° **Ablation des cotylédons.** — Les essais suivants sont réalisés (fig. 8) :

— embryons intacts *(A)* ;

— excision presque totale de l'un des cotylédons *(B)* ;

— ablation de l'extrémité des deux cotylédons *(C)* ;

— ablation de la moitié des deux cotylédons *(D)* ;

— ablation de la presque totalité des deux cotylédons *(E)* ;

— élimination de la totalité des cotylédons *(F)*. Ceux-ci sont détachés au niveau de leur point de fixation sur l'axe de l'embryon qui subsiste seul.

Nous avons vu que lorsque des embryons dormants intacts sont ensemencés à plat sur un cotylédon, seul le cotylédon qui est au contact du milieu de culture grandit et verdit. Dans le cadre de l'essai *A*, nous avons procédé à des ablations du cotylédon supérieur resté petit et blanc (essai *A'*) ou du cotylédon inférieur large et vert (essai *A''*).

2° **Position des embryons** (fig. 8). — Trois positions des embryons des séries *A*, *B* et *D* ont été étudiées :

— embryons mis à plat sur un cotylédon comme précédemment (*A*, *B* et *D*);

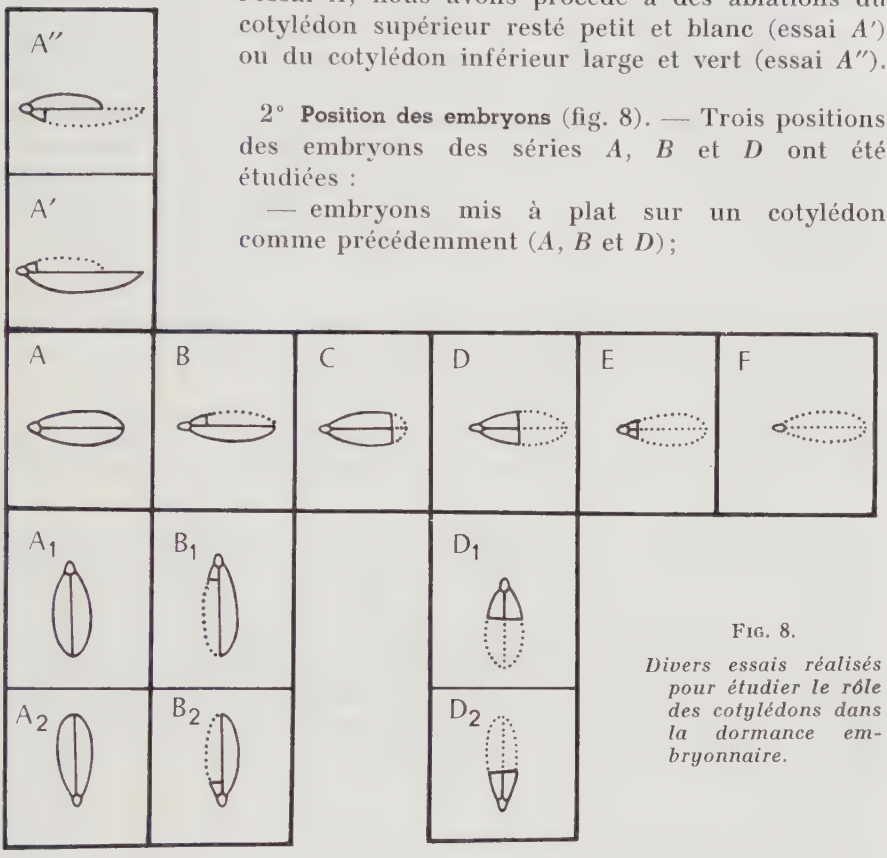

Fig. 8.

Divers essais réalisés pour étudier le rôle des cotylédons dans la dormance embryonnaire.

— embryons debout sur les cotylédons (A_1), sur le seul cotylédon restant (B_1) ou sur la section des cotylédons (D_1);

— embryons debout sur la radicule (A_2, B_2 et D_2).

Remarque. — La blessure occasionnée par la section des cotylédons n'entraîne pas le développement de moisissures.

2° *Résultats.*

Les résultats varient selon le degré de dormance des embryons. Il est difficile, dans le cas des embryons incomplets, de savoir si la germination est normale ou non. Nous avons donc considéré comme germés tous les embryons dont la radicule s'est allongée.

1° **Embryons très dormants** (prélevés dès la récolte).

L'amputation progressive des cotylédons (tableau III) n'entraîne une augmentation nette du pourcentage de germination que lorsque la presque totalité des cotylédons a été enlevée (essai *E*). Lorsqu'il ne subsiste que l'axe de l'embryon (essai *F*), dans 24 % des cas la radicule peut s'allonger de 4 à 5 mm, mais le développement ne va pas au-delà; la croissance s'arrête sans doute parce que la radicule n'a pas de réserves nutritives à sa disposition. Kester (1953) constate en effet que la germination des embryons de Pêcher stratifiés est impossible si les cotylédons sont enlevés en totalité, sauf si le milieu de culture contient du saccharose; la croissance est possible s'il reste des fragments de cotylédons.

Tableau III. — Influence de l'excision progressive des cotylédons sur la germination, a 18° C, d'embryons (var. *Reinette du Mans*) prélevés dès la récolte des fruits. Taux de germination relevés après 60 jours.

Pour la signification des essais, se reporter à la figure 8.

Essais (fig. 8)	A	B	C	D	E	F
Taux de germination (%).	32	32	27	35	68	24

L'ensemencement des embryons sur la radicule réduit les taux de germination sauf si un cotylédon est enlevé en presque totalité (tableau IV). La culture des embryons debout sur les cotylédons ne permet à aucun embryon de germer, sauf si la moitié des deux cotylédons a été enlevée.

Tableau IV. — Influence de la position des embryons prélevés dès la récolte (var. *Reinette du Mans*) sur leur germination a 18° C. Taux de germination relevés après 60 jours.

Pour la signification des essais, se reporter à la figure 8.

Essais (fig. 8)	A	A_1	A_2	B	B_1	B_2	D	D_1	D_2
Taux de germination (%).	32	0	12	32	0	31	35	16	10

La capacité de germination des embryons très dormants augmente donc après excision de la presque totalité des cotylédons et devient nulle lorsque les embryons sont imbibés par les cotylédons, c'est-à-dire quand la radicule est loin du point d'imbibition. *Les cotylédons semblent donc être, en partie au moins, responsables de la non-germination des embryons dormants.* Cependant, on s'explique mal pourquoi les embryons ensemencés sur la radicule germent en moins grand

nombre que les embryons ensemencés à plat, même lorsque la moitié des cotylédons a été enlevée (essai A_2 et D_2).

Après 25 jours à 18° C, les taux de germination des embryons cultivés à plat sur un cotylédon sont voisins de 20 % (tableau V). L'ablation du petit cotylédon blanc des embryons non germés permet, au total, la germination de 49 % d'embryons (essai A', tableau V); l'ablation du grand cotylédon vert (essai A'') ne permet pas la germination d'un plus grand nombre d'embryons que chez le témoin A.

Tableau V. — Taux de germination enregistrés a 18° C après ablation, le 25e jour de culture, de l'un ou l'autre des cotylédons (var. *Reinette du Mans*).
Pour la signification des essais, se reporter à la figure 8.

Essais (fig. 8)		A	A′	A″
Taux de germination (%) après	25 jours.	22	20	19
	60 jours.	32	49	27

Le cotylédon non imbibé semble donc être plus important dans le phénomène de dormance que le cotylédon imbibé. Cependant, le fait de retourner tous les jours les embryons, de façon à assurer une égale imbibition des deux cotylédons, n'a pas permis d'obtenir des taux de germination supérieurs à ceux des embryons témoins laissés en permanence à plat sur le même cotylédon.

Les vitesses de germination, exprimées par le temps moyen nécessaire à la germination des embryons ainsi traités (inverse × 100 du « coefficient de vélocité » de Kotowski, voir p. 384), sont toujours faibles et indépendantes des capacités de germination (tableau VI).

Tableau VI. — Temps moyen (Tm) nécessaire a la germination des embryons (var. *Reinette du Mans*) traités comme il est indiqué figure 8

Essais (fig. 8)	A	A_1	A_2	B	B_1	B_2	C	D	D_1	D_2	E	F
Tm (jours).	29,6	—	32,2	29,5	—	32,6	32,3	30,4	24,8	32,6	27,9	25,9

2° **Embryons moins dormants.** — Les mêmes essais, réalisés avec des embryons prélevés dans des fruits traités pendant 170 jours à 12° C, ont fourni les résultats consignés dans le tableau VII. La dormance étant moins profonde que dans l'expérience précédente, les taux de germination sont plus élevés; toutefois les plantules restent anormales. Plusieurs faits ressortent clairement de ces résultats.

Tableau VII. — Comparaison des taux et des temps moyens (Tm) de germination, enregistrés après 30 jours a 18° C avec des embryons prélevés dans des fruits (var. *Reinette du Mans*) traités pendant 170 jours a 12° C.

Pour la signification des essais, se reporter à la figure 8.

Essais (fig. 8)	A	A_1	A_2	B	B_1	B_2	D	D_1	D_2	E	F
Taux de germination (%)	80	18	87	95	15	82	94	84	85	100	79
Tm (jours).	10,0	14,7	10,0	9,8	11,0	7,2	8,3	10,7	10,3	6,3	10,9

— Une amputation importante des cotylédons (*B, D* et surtout *E*) élève les taux de germination quand les embryons sont ensemencés à plat sur un cotylédon.

— Peu d'embryons sont capables de germer lorsqu'ils sont ensemencés debout sur les cotylédons *(A_1)* ou sur le cotylédon qui subsiste *(B_1)*.

— L'ensemencement des embryons, amputés ou non d'une fraction des cotylédons *(A_2, B_2, D_2)*, debout sur la radicule, ne permet pas d'obtenir des taux de germination nettement supérieurs à ceux des témoins *A*.

— D'une façon générale, la vitesse de germination croît avec les taux de germination.

— Les taux de germination des embryons amputés de la totalité des cotylédons *(F)* sont plus élevés que lors de la récolte. La dormance ne réside donc pas uniquement dans les cotylédons mais aussi dans l'axe des embryons.

Remarques. — Les cotylédons verdissent toujours au contact du milieu de culture. Dans l'essai A_1, par exemple, les deux cotylédons sont verts sur la moitié de leur longueur après un mois à 18° C. La synthèse de chlorophylle n'est donc possible que dans les zones des cotylédons qui peuvent s'imbiber facilement.

Les anomalies des plantules semblent être réduites par l'excision d'une partie des cotylédons.

Le résultat le plus remarquable paraît être le fait que *la capacité de germination des embryons ensemencés debout sur les cotylédons* (essai A_1) *est extrêmement faible*. A l'aide d'embryons prélevés dans des fruits ayant séjourné 90 jours à 12° C, dont le degré de dormance est compris entre celui des deux exemples précédents, nous avons réalisé l'expérience suivante : 100 embryons sont placés à plat sur le coton humide (essai *A*) et 100 autres sont placés debout sur les cotylédons (essai A_1). Après 30 jours au germoir, les embryons de l'essai A_1 sont basculés et mis à plat sur un cotylédon comme dans l'essai *A* et laissés à nouveau 30 jours dans cette position. Les taux de germination enregistrés après 30 et 60 jours sont consignés dans le tableau VIII.

Le fait de laisser pendant 30 jours les embryons debout sur les cotylédons réduit considérablement leur capacité ultérieure de germination. *Les embryons sont devenus plus dormants qu'ils ne l'étaient au départ.*

TABLEAU VIII. — TAUX DE GERMINATION ENREGISTRÉS A 18° C AVEC DES EMBRYONS (var. *Reinette du Mans*) PRÉLEVÉS DANS DES FRUITS AYANT SÉJOURNÉ 90 JOURS A 12° C, ET ENSEMENCÉS EN PERMANENCE A PLAT SUR UN COTYLÉDON OU PENDANT 30 JOURS DEBOUT SUR LES COTYLÉDONS PUIS PENDANT 30 JOURS A PLAT SUR UN COTYLÉDON.

Essais (fig. 8)		A pendant 60 jours	A_1 pendant 30 jours puis A pendant 30 jours
Taux de germination (%) après	30 jours.	69	2
	60 jours.	74	9

3° **Embryons non dormants.** — Quelle que soit l'importance de l'amputation pratiquée sur des embryons non dormants, la germination de ces embryons est inchangée lorsqu'ils sont ensemencés à plat sur un cotylédon (essais *A*, *B*, *C*, *D* et *E*). Tous les embryons germent rapidement. Par contre, la germination est considérablement affectée par la position des embryons sur le milieu de culture.

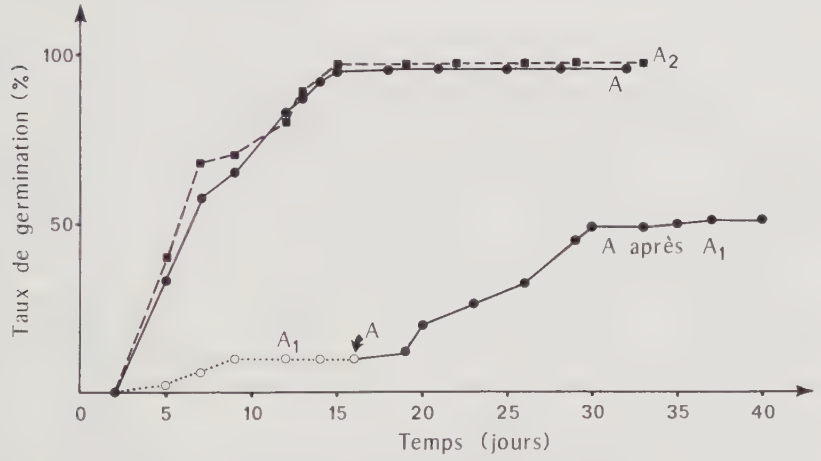

FIG. 9. — *Influence de la position des embryons non dormants* (var. *Reinette du Mans* : fruits 75 jours à 4° C) *sur leur germination à 18° C.*

A : embryons à plat sur un cotylédon.
A_1 : embryons debout sur les cotylédons.
A_2 : embryons debout sur la radicule.

La figure 9 fournit les résultats obtenus avec des embryons prélevés dans des fruits traités pendant 75 jours à 4° C; ces embryons ne sont plus dormants. Ils germent pratiquement tous quand ils sont ensemencés à plat sur un cotylédon (essai *A*) ou debout sur la radicule

(essai A_2). Par contre, s'ils sont ensemencés debout sur les cotylédons (essai A_1), leur capacité de germination est d'environ 10 %. Si, après 16 jours au germoir, les embryons non germés sont basculés de façon à ce qu'ils aient un cotylédon au contact du coton humide (position A), nous constatons que 50 % des embryons ont perdu la faculté de germer dans les conditions de l'expérience. Des résultats du même type sont obtenus avec des embryons isolés dès la récolte des fruits et mis en post-maturation pendant 75 jours à 4° C.

Des embryons non dormants, mis en culture pendant une quinzaine de jours debout sur les cotylédons, font donc retour à un état de dormance (dormance secondaire).

4° **Influence du poids des embryons.** — C'est essentiellement le poids des cotylédons qui fait varier celui des embryons. Il semble donc, à la lumière des résultats précédents, que les embryons les plus légers doivent germer le plus facilement.

Des embryons, prélevés dans des pommes Reinette du Mans ayant séjourné 130 jours à 12° C, sont ensemencés normalement (à plat sur un cotylédon), après avoir été pesés un à un, et mis à germer à 18° C. Les embryons sont répartis en lots en fonction de leur poids, de façon à constituer des classes de 4 en 4 mg. Tout embryon dont la radicule s'est allongée est considéré comme germé, même s'il donne naissance

Tableau IX. — Pourcentages d'embryons capables de germer en 30 jours a 18° C, en fonction du poids de ces embryons. Embryons prélevés dans des fruits (var. *Reinette du Mans*) traités pendant 130 jours a 12° C.

Poids des embryons (mg)	Nombre d'embryons	Nombre d'embryons germés	% d'embryons germés
< 30	7 } 12	6 } 10	83,5
30-34	5 }	4 }	
34-38	21	18	85,8
38-42	52	44	84,6
42-46	76	61	80,3
46-50	97	77	79,5
50-54	56	46	82,1
54-58	17 } 26	13 } 21	80,8
58-62	9 }	8 }	

à une plantule anormale; presque toutes les plantules obtenues sont d'ailleurs anormales puisque les embryons sont dormants. Le tableau IX fournit les résultats obtenus avec 340 embryons. Quel que soit le poids des embryons, leurs taux de germination après 30 jours sont sensiblement les mêmes.

Les embryons les plus légers ne germent pas mieux que les embryons les plus lourds. La masse de cotylédons n'est donc pas liée directement à la dormance.

3° Essai d'interprétation des résultats.

1° Lorsque les embryons sont ensemencés à plat sur un cotylédon, l'excision d'une partie des cotylédons permet une germination d'autant meilleure que l'amputation est plus importante (mais non totale) et que les embryons sont moins dormants. La cause de la dormance embryonnaire semble donc résider en partie dans les cotylédons.

Si l'on fait intervenir des inhibiteurs localisés dans les cotylédons, on comprend facilement qu'on enlève d'autant plus d'inhibiteurs que l'amputation est plus importante. Il faut alors admettre qu'au cours de la levée de dormance, ou bien les inhibiteurs disparaissent ou bien des promoteurs de la germination se forment, ou bien le rapport entre inhibiteurs et promoteurs est modifié en faveur des promoteurs.

2° Dans le cas des embryons dormants, l'ablation du cotylédon qui s'imbibe mal lève en partie la dormance alors que l'ablation du cotylédon imbibé n'a aucun effet.

Nous sommes donc tenté de conclure que la cause de la dormance d'origine cotylédonaire réside surtout dans le cotylédon qui s'imbibe mal. Ceci peut s'interpréter en faisant intervenir des inhibiteurs cotylédonaires qui disparaissent ou des promoteurs qui apparaissent au cours de l'imbibition. Mais alors on ne s'explique pas pourquoi, en retournant les embryons tous les jours de façon à assurer une égale imbibition des deux cotylédons, la germination n'est pas améliorée.

3° Le fait que l'ensemencement des embryons debout sur les cotylédons réduise considérablement leur capacité de germination peut être interprété en admettant que l'imbibition se fait mal par les cotylédons et que les inhibiteurs éventuels ne sont pas détruits au niveau de la radicule ou que les promoteurs formés à l'extrémité des cotylédons, du fait de l'imbibition, ne peuvent pas migrer vers la radicule. Les embryons ensemencés debout sur la radicule ne germant pas mieux que les embryons mis à plat sur le milieu de culture, on doit admettre que, du fait de la mauvaise imbibition des cotylédons dans cette position, trop peu d'inhibiteurs sont détruits ou trop peu de promoteurs sont formés.

En fait, le phénomène étudié est certainement très complexe. Nous ne comprenons pas, en effet, pourquoi un embryon laissé debout sur les cotylédons pendant un certain temps est plus dormant qu'il ne l'était au départ. C'est ainsi que ce traitement induit une dormance chez des embryons primitivement non dormants. Ce dernier résultat prouve en outre que les inhibiteurs cotylédonaires, éventuellement responsables de la dormance, ne disparaissent pas au cours de la post-maturation.

Ces considérations peuvent servir de base, comme hypothèse de travail, dans la recherche du mécanisme de la dormance embryonnaire et de la levée de dormance.

III. — CONCLUSION

Le prétraitement des graines de Pommier au froid humide lève progressivement leur dormance embryonnaire. D'un point de vue morphologique, celle-ci se manifeste par une croissance anormale des jeunes plantules qui reflète l'état de dormance des embryons.

La post-maturation complète des embryons est d'autant plus rapide que la température de prétraitement est plus basse.

La cause essentielle de la dormance embryonnaire semble résider dans les cotylédons dont l'excision favorise la germination.

Les exigences thermiques des embryons prétraités dans les fruits et hors des fruits sont du même ordre. Si Bartlett (1961) pense que la post-maturation des graines de Pommier au sein des fruits maintenus à 4° C est mauvaise, c'est sans doute parce qu'il ne considère que la germination des graines intactes munies de leurs enveloppes. Nous avons très vite constaté, en effet, que le comportement de ces graines est très différent de celui de leurs embryons et des graines prétraitées hors des fruits.

CHAPITRE III

MISE EN ÉVIDENCE D'UNE INHIBITION TÉGUMENTAIRE CHEZ LES GRAINES DE POMMIER PRÉTRAITÉES AU SEIN DES FRUITS

A notre connaissance, les auteurs n'ont jamais signalé l'existence d'une inhibition tégumentaire chez les graines de Pommier. L'étude comparée de la quantité de froid nécessaire à la germination des graines prétraitées au sein des fruits et hors des fruits nous a permis de mettre en évidence une telle inhibition.

Nous exposerons ici les résultats obtenus avec des graines de Pommier de la variété Reinette du Mans. Les essais de germination sont effectués à la température constante de 18° C.

I. — COMPORTEMENT DES GRAINES EXTRAITES DES FRUITS

Les résultats obtenus (fig. 10) sont très comparables à ceux qui sont fournis par les embryons nus (comparer les fig. 10 et 7). La présence des enveloppes autour des embryons ne fait que retarder très légèrement la germination.

Comme Bolotskij (1959), nous constatons que la température à laquelle s'effectue le prétraitement des graines de Pommier joue un rôle très important dans la germination. La température de 0° C est la plus favorable à la post-maturation des graines de Pommier de la variété Reinette du Mans, mais 4° C est une température presque aussi bonne. Les graines germent même au froid après 2 mois et demi à 4° C. Schander (1955 *a* et *b*, 1956) a obtenu des résultats comparables aux nôtres avec des graines d'autres variétés de Pommier.

Si les graines imbibées séjournent quelques mois à 18° C avant d'être mises au froid, il suffit toujours de 1 mois et demi à 0° C ou 2 mois à 4° C pour permettre leur germination; le séjour préalable des graines à 18° C ne gêne donc pas l'action ultérieure du froid.

Après une post-maturation suffisante pour assurer une bonne germination des graines, le séchage de celles-ci pendant quelques jours suffit à réduire sensiblement leur capacité de germination, même si

elles ont été séchées en atmosphère d'oxygène pur et à basse température. La germination des embryons est peu affectée par un tel traitement. Visser (1956 *a*) observe, au contraire, que le séchage des graines de Pommier Golden Delicious et Jonathan au cours du prétraitement réduit peu les taux de germination.

Lorsque les graines subissent leur post-maturation hors des fruits, leur germination exige le même traitement au froid que les embryons qu'elles renferment puisque ces embryons ne fournissent de plantules normales que lorsque les graines intactes sont elles-mêmes capables

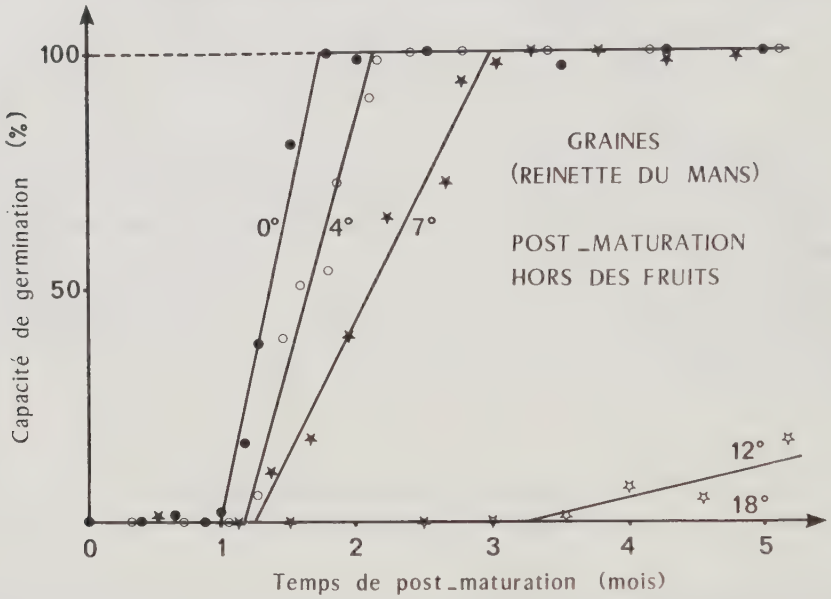

Fig. 10. — *Influence de la température et de la durée de post-maturation sur la capacité de germination, à 18° C, des graines* (var. *Reinette du Mans*) *prétraitées hors des fruits.*

de germer. *Le rôle des enveloppes séminales est donc secondaire.* Visser (1956 *b*) fait la même remarque avec d'autres variétés de Pommier.

Par contre, le rôle des enveloppes séminales n'est plus du tout négligeable lorsque la post-maturation des graines a lieu au sein des fruits.

II. — COMPORTEMENT DES GRAINES EN PLACE DANS LES FRUITS

La même étude est faite avec des graines prétraitées au sein des fruits aux mêmes températures que précédemment. La figure 11 résume schématiquement les résultats obtenus.

1° Toutes les graines peuvent germer lorsque les fruits ont séjourné

2 mois à 2 mois et demi à 0° C. Si le séjour des fruits à 0° C est prolongé au-delà de 3 mois et demi, la capacité de germination de leurs graines diminue quand la durée de traitement augmente. La réduction de la capacité de germination n'est pas due aux embryons qui germent toujours très bien et en totalité dès que les pommes ont séjourné 2 mois à 0° C.

2° Lorsque les fruits sont soumis aux températures de 4° C ou 7° C, les embryons nus germent tous après 2 mois à 2 mois et demi de traitement, alors que les graines entières ne germent jamais en totalité.

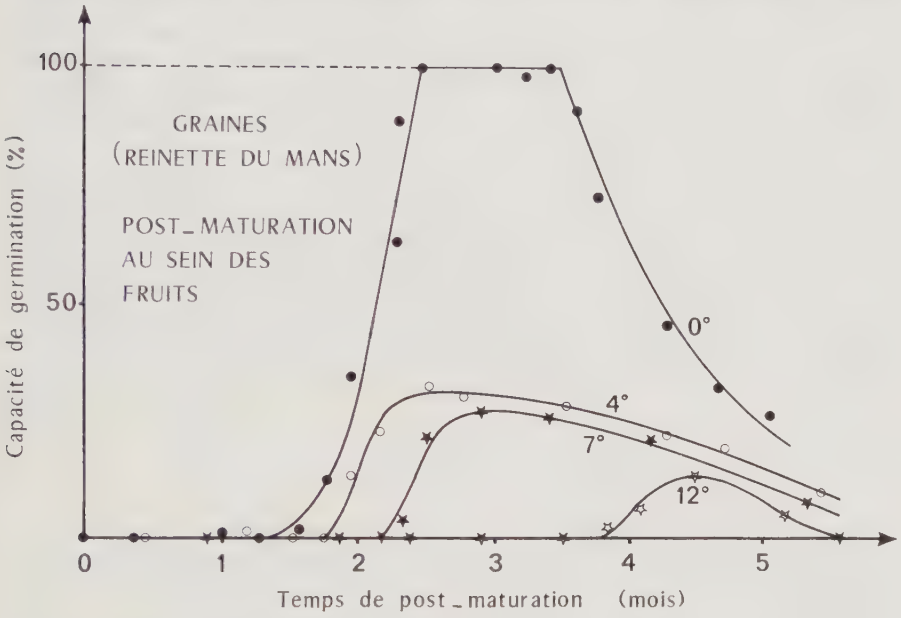

FIG. 11. — *Influence de la température et de la durée de post-maturation sur la capacité de germination, à 18° C, des graines* (var. *Reinette du Mans*) *prétraitées au sein des fruits.*

Après 9 à 10 semaines à 4° C et 11 à 12 semaines à 7° C, leur capacité de germination est de 25 à 30 %; elle diminue ensuite si le séjour des fruits à ces températures est plus prolongé.

3° Quelques graines des fruits traités à 12° C peuvent germer après 4 à 5 mois et demi de traitement. Au-delà, aucune graine ne germe plus. Le traitement des fruits à 18° C ne permet jamais à leurs graines de germer.

Il existe donc une première différence dans le comportement des graines de Pommier mises en post-maturation au sein des fruits et à l'extérieur des fruits; la comparaison des figures 10 et 11 est particulièrement significative. Cette différence ne tient pas aux embryons. *Ce sont donc les enveloppes séminales qui inhibent la germination d'une partie des graines prétraitées au sein de leurs fruits.*

Une seconde différence importante est la suivante : si, après avoir séjourné 2 mois et demi à 0° C, les fruits sont ramenés 3 semaines à 12 ou 18° C, leurs graines germent beaucoup plus difficilement. Inversement, si les fruits ont séjourné 3 semaines à 18° C, avant d'être placés à 0° C pendant 2 mois et demi, quelques graines seulement peuvent germer. Aucune graine ne germe plus si le traitement des fruits à 0° C a été précédé de 5 semaines à 18° C. Dans tous les cas, les embryons nus provenant de fruits ainsi traités germent normalement, comme le font les graines intactes isolées soumises aux mêmes conditions. Par conséquent, les températures tièdes (12° C ou 18° C), appliquées aux fruits pendant quelques semaines avant ou après un traitement suffisant au froid pour permettre normalement une germination complète de leurs graines, empêchent la germination de ces dernières mais pas celle de leurs embryons. Là encore, les températures tièdes agissent au niveau des enveloppes séminales.

Remarque. — Tous nos essais de germination ont porté simultanément sur les graines intactes, les graines dépourvues d'enveloppe externe et les embryons nus. Si l'ablation de l'enveloppe externe favorise très légèrement la germination (observation déjà faite par G. T. Harrington et Hite, 1923), elle ne modifie pas les faits observés; c'est pourquoi nous n'avons pas mentionné ce cas.

III. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les graines isolées et traitées par le froid humide germent aussi bien que leurs embryons dénudés. Ces derniers germent seulement plus rapidement.

Dans le cas des graines traitées par le froid au sein des fruits, il existe une différence très nette entre la germination des embryons et celle des graines intactes. Après 3 mois et demi de traitement des pommes à 0° C, se manifeste une inhibition tégumentaire de germination dont l'intensité augmente avec la durée du séjour des fruits en chambre froide. Le traitement des fruits à 4° C ne permet jamais aux graines de germer en totalité, alors que les embryons germent toujours très facilement dès que le froid les a complètement éveillés. L'inhibition tégumentaire apparaît donc beaucoup plus tôt à cette température. Elle se manifeste avant que la levée de dormance embryonnaire ne soit achevée. Ce fait est encore plus net lorsque les fruits sont traités à 7° C. Les températures tièdes font apparaître rapidement cette inhibition tégumentaire qui persiste si les fruits sont ensuite soumis au froid, puisque quelques semaines à 12° C ou 18° C, appliquées avant 2 mois et demi à 0° C, suffisent à inhiber la germination.

Dans la variété considérée (Reinette du Mans), il existe un « temps optimum » de séjour des fruits à 0° C, qui assure la germination de

la totalité des graines. Ce « temps optimum » est compris entre 2 mois et demi et 3 mois et demi. Il correspond au moment où la dormance embryonnaire est complètement levée alors que l'inhibition tégumentaire n'est pas encore acquise.

IV. — CONCLUSION

Les graines de Pommier de la variété Reinette du Mans ont un besoin absolu de froid humide pour pouvoir germer.

La germinaison des graines traitées par le froid humide au sein des fruits est soumise à deux phénomènes antagonistes. *Au cours du traitement des fruits, la levée de dormance embryonnaire se fait progressivement — d'autant plus vite que la température est plus basse —, mais il apparaît, en outre, une inhibition tégumentaire dont l'évolution est ralentie par le froid.*

Nous insistons sur le fait que l'*inhibition tégumentaire ne se manifeste que lorsque les graines subissent leur post-maturation au sein des fruits.*

Une étude plus complète de ce phénomène nous a montré que l'intensité de l'inhibition tégumentaire varie considérablement en fonction de divers facteurs.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS SUR L'INTENSITÉ DE L'INHIBITION TÉGUMENTAIRE

Les résultats qui précèdent mettent en évidence l'influence, sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire, de deux facteurs essentiels :

— *la température de post-maturation;*
— *la durée de post-maturation* à une même température.

Deux autres facteurs nous sont très vite apparus très importants :

— *la variété;*
— *la température de germination.*

Afin de tenter de comprendre quelle est la cause de l'inhibition tégumentaire, ces quatre facteurs ont été étudiés.

I. — INFLUENCE DE LA VARIÉTÉ

La même étude que précédemment a été faite à l'aide d'une autre variété de Pommes (Reinette de Caux). Nos essais ont porté sur des fruits traités pendant 45 jours à 4° C avant d'être répartis aux mêmes températures que précédemment. Après 45 jours à 4° C, la dormance embryonnaire est partiellement levée : 50 % environ des graines germent à 18° C. La figure 12 montre que, chez cette variété, l'inhibition tégumentaire ne se manifeste pas après 4 à 5 mois à 0° C succédant à 45 jours à 4° C. Cette inhibition n'apparaît qu'après que les fruits aient séjourné 3 mois et demi à 4° C. Pour cette température, le « temps optimum » est compris entre 2 mois et 3 mois et demi environ. A 7° C, et surtout 12° C, l'inhibition tégumentaire apparaît plus tôt, avant que la levée de dormance embryonnaire ne soit achevée. La température de 18° C annule progressivement l'effet bénéfique sur la germination de 45 jours de traitement à 4° C. Cette interprétation tient évidemment compte du fait que les embryons nus germent normalement. Dans la variété Reinette de Caux, l'inhibition tégumentaire se manifeste donc beaucoup plus tardivement et pour des températures de prétraitement

plus élevées que dans la variété Reinette du Mans. Les graines des variétés de pommes Reinette du Canada, Stayman Winesap et Calville Blanc semblent se comporter comme celles de la variété Reinette de Caux.

L'inhibition tégumentaire prend donc plus ou moins d'importance selon la variété considérée. Mais elle croît toujours avec la température de traitement des fruits. Selon les récoltes, l'intensité de l'inhibition tégumentaire peut varier légèrement au sein d'une même variété. Toutefois, c'est toujours, parmi les variétés étudiées, chez la variété Reinette du Mans qu'elle est maximale.

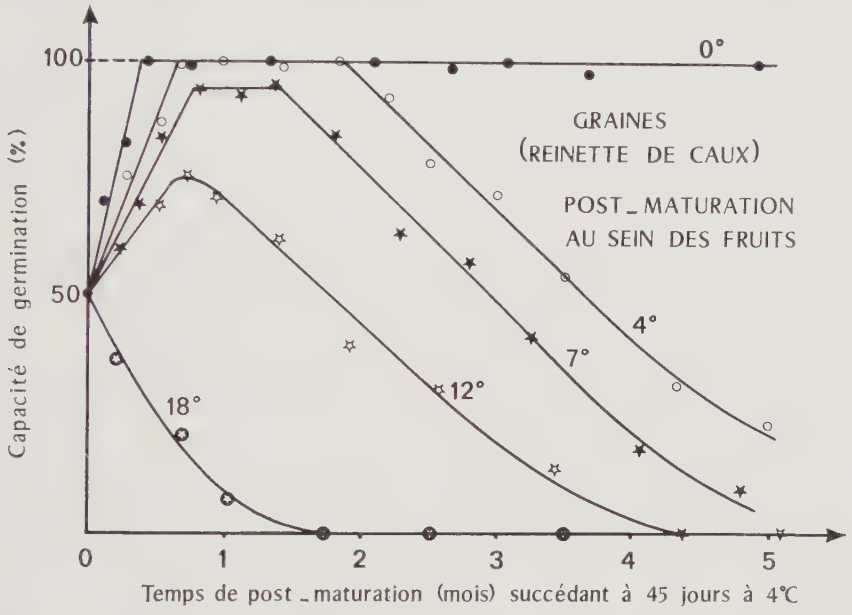

FIG. 12. — *Influence de la température et de la durée de post-maturation, succédant à 45 jours à 4° C, sur la capacité de germination à 18° C des graines* (var. *Reinette de Caux*) *prétraitées au sein des fruits.*

L'inhibition tégumentaire est liée à la présence du péricarpe autour des graines. Tout se passe comme si une substance chimique (ou un groupe de substances), responsable de cette inhibition, était synthétisée dans le fruit et exerçait son action sur les graines par l'intermédiaire des enveloppes séminales. Cette synthèse, rapide aux températures moyennes, serait considérablement ralentie par le froid. Ces faits font penser aux inhibiteurs de germination présents dans les fruits charnus, appelés « blastokolines » par KÖCKEMANN (1934 et 1936) et mis en évidence par de nombreux auteurs.

Ces blastokolines sont souvent rendues responsables de l'absence de germination des graines au sein de leurs fruits. Cependant, ASCHERSON (1875) et LAVIALLE (1929) ont signalé qu'accidentellement des graines

germaient à l'intérieur des fruits. Pour Gindel (1960) ce n'est d'ailleurs pas un fait très exceptionnel. De notre côté, nous avons rencontré assez fréquemment des graines germées dans des pommes Stayman Winesap traitées 5 mois à 0° C puis ramenées une semaine à la température du Laboratoire et surtout chez les pommes Reinette de Caux mises 5 mois à 4° C. Les graines n'ont jamais germé au sein des fruits traités à d'autres températures et ce sont les deux seules variétés étudiées qui aient présenté de tels faits. L'explication peut en être donnée par les résultats qui précèdent. Les graines ne germent au sein de leur fruit que si celui-ci séjourne à basse température parce que, à température plus élevée, l'inhibition tégumentaire empêche la germination. D'autre part, ces germinations ne se produisent que dans des variétés où l'inhibition tégumentaire apparaît très tard; elles ne s'observent jamais dans la variété Reinette du Mans où l'inhibition tégumentaire se manifeste beaucoup plus tôt.

II. — INFLUENCE CONJUGUÉE DE LA TEMPÉRATURE DE POST-MATURATION ET DE LA TEMPÉRATURE DE GERMINATION

Nous avons étudié l'influence de la température sur la germination de graines prélevées dans des pommes Stayman Winesap ayant séjourné 4 mois à 0, 4 ou 12° C.

La vitesse et la capacité de germination varient considérablement avec la température de germination, la température de prétraitement et selon que nous considérons les embryons dénudés ou les graines intactes (fig. 13).

1° Capacité de germination.

1° **Cas des embryons dénudés.** — Quelles que soient la température de post-maturation et la température de germination, pratiquement tous les embryons germent. Ils germent même en l'absence préalable de froid (fruits à 12° C) car, dans la variété considérée, ils sont peu dormants; toutefois, les plantules auxquelles ils donnent naissance dans ces conditions sont souvent anormales, surtout lorsque la germination a lieu à 22° C.

2° **Cas des graines intactes.** — L'examen des taux maximaux de germination montre que :

a) pour une même température de post-maturation, la capacité de germination diminue lorsque la température de germination augmente;

b) pour une même température de germination, la capacité de germination diminue lorsque la température de traitement des fruits augmente.

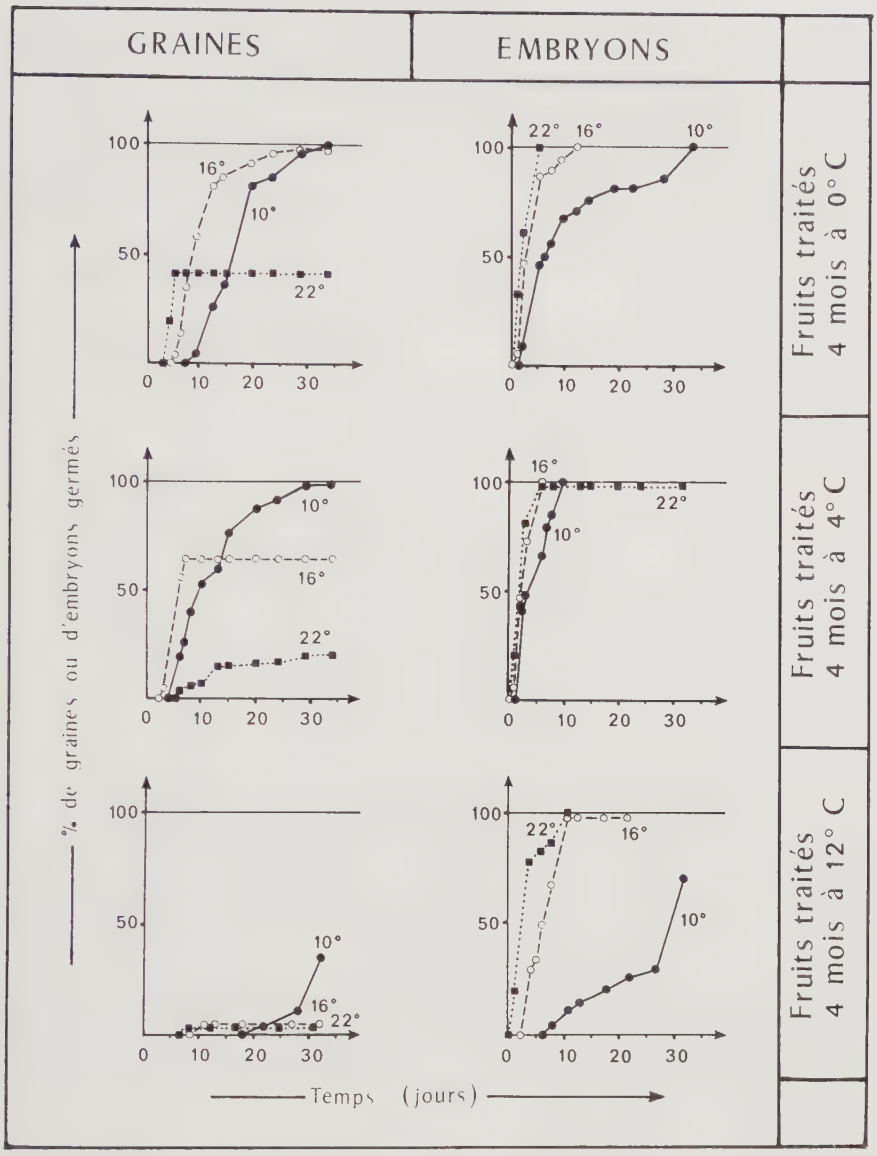

FIG. 13. — *Germination, à 10, 16 et 22° C, des graines et des embryons* (var. *Stayman Winesap*) *prétraités au sein des fruits pendant 4 mois à 0, 4 et 12° C.*

3° **Interprétation des résultats.** — Ces faits montrent que l'action inhibitrice des enveloppes séminales augmente avec la température de post-maturation des graines et la température de germination. L'influence inhibitrice des enveloppes est résumée dans le tableau X.

Tableau X. — Influence de la température de post-maturation et de la température de germination sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire des graines de Pommier *Stayman Winesap* prétraitées au sein des fruits.

Température de germination	Capacité de germination (%)		Taux des graines inhibées par les enveloppes (%)
	des embryons	des graines	
	Fruits 4 mois à 0° C.		
10° C	100	100	0
16° C	100	98	2
22° C	100	41	59
	Fruits 4 mois à 4° C.		
10° C	100	98	2
16° C	100	64	36
22° C	98	20	78
	Fruits 4 mois à 12° C.		
10° C	—	—	—
16° C	97	3	94
22° C	100	2	98

2° *Vitesse de germination.*

1° **Caractérisation de la vitesse de germination.** — L'examen de la figure 13 nous montre que les courbes comportent toujours au départ une portion à peu près linéaire, et que les premières germinations apparaissent plus ou moins longtemps après la mise des graines au germoir; ce temps peut être appelé « temps de latence » puisque c'est le temps nécessaire à la manifestation de la germination. La vitesse de germination peut être appréciée soit par la pente de la portion linéaire des courbes, soit par le temps de latence, soit par l'ensemble de ces deux caractéristiques que reflètent le « coefficient de vélocité » de Kotowski (1926) ou le Σ10 de Timson (1965).

2° **Relation entre la pente de la portion linéaire des courbes et le temps de latence.** — Nous exprimerons la pente de la portion linéaire des courbes par le pourcentage de graines ou d'embryons qui germent en 2 jours pris sur la partie linéaire des courbes. Nous l'appellerons « coefficient N ». Si toutes les graines d'un même lot étaient rigoureusement identiques, elles germeraient toutes en même temps et le « coefficient N » n'existerait pas. Celui-ci tient donc au fait que toutes les graines ou tous les embryons d'un lot, soumis aux mêmes conditions de post-maturation, ne sont pas exactement dans le même état physiologique, certains d'entre eux étant aptes à germer plus rapidement que

d'autres. Autrement dit, le « coefficient N » résulte de la variation individuelle des graines d'un même lot.

Plutôt que le temps de latence (T), nous considérerons son inverse (1/T) qui a davantage la signification d'une vitesse. Le temps de latence est difficile à déterminer avec précision dans le cas des embryons, car ceux-ci germent très vite et il est très difficile de savoir exactement quand un embryon est germé. Nous n'avons donc porté notre attention que sur le temps de latence de la germination des graines intactes.

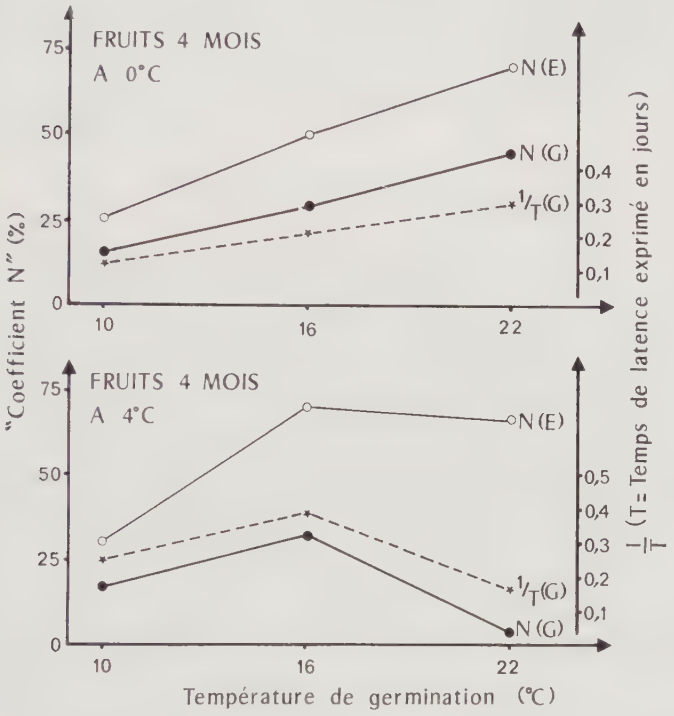

Fig. 14. — *Variation, en fonction de la température de germination, du « coefficient N »* (N) *et du temps de latence* (1/T) *de la germination des graines* (G) *et des embryons* (E) (var. *Stayman Winesap*) *prétraités au sein des fruits pendant 4 mois à 0 et 4° C.*

Dans le cas des graines, 1/T varie exactement comme le « coefficient N » (fig. 14). Il y a donc un lien étroit entre la rapidité d'apparition des premières germinations et celle des germinations suivantes.

3° **Interprétation des résultats.** — Pour Popcov et Buch (1960), lors d'une germination normale, l'embryon entre immédiatement dans la phase de croissance; la température joue alors un rôle de facteur strictement physiologique agissant directement sur les processus de germination et de croissance. C'est effectivement ce que nous constatons dans

le cas des embryons et des graines traités 4 mois à 0° C, dont la vitesse de germination entre 10° et 22° C est proportionnelle à la température. Ce n'est plus tout à fait exact dans le cas des embryons des fruits placés pendant le même temps à 4° C. Il n'en est plus du tout de même avec les graines intactes prélevées dans les fruits traités à 4° C ou 12° C. Ces faits mettent bien en évidence l'influence des enveloppes sur la germination que l'on peut préciser en comparant les Q_{10} de la germination.

4° **Comparaison des Q_{10}.** - Le Q_{10} de la germination peut facilement être calculé à l'aide de la formule suivante (voir Bělehrádek, 1935) :

$$Q_{10} = \left(\frac{K_2}{K_1}\right)^{\frac{10}{T_2 - T_1}}$$

soit :

$$\log Q_{10} = \frac{10\ (\log K_2 - \log K_1)}{T_2 - T_1}$$

où K_2 et K_1 sont les vitesses de la réaction aux températures T_2 et T_1.

Dans notre cas, la vitesse de la réaction est représentée par la vitesse de germination, c'est-à-dire le « coefficient N ». Les valeurs du Q_{10} obtenues entre 10° et 16° C et entre 16° et 22° C (tableau XI) confirment les résultats exposés précédemment. La température agit de la

Tableau XI. — Variation du Q_{10} de la germination des embryons et des graines (var. *Stayman Winesap*) prétraités au sein des fruits, en fonction de la température de post-maturation et de la température de germination.

Ecarts de température	Q_{10}			
	Fruits 4 mois a 0° C		Fruits 4 mois a 4° C	
	Embryons	Graines	Embryons	Graines
10-16° C	3,2	3,2	2,7-2,8	2,9
16-22° C	1,7-1,8	2,0	0,9	0,03

même façon sur la vitesse de germination des embryons et des graines des fruits traités à 0° C; la vitesse de germination augmente plus rapidement entre 10° et 16° C ($Q_{10} = 3,2$) qu'entre 16° et 22° C (Q_{10} voisin de 2). Pour les fruits traités à 4° C, la vitesse de germination des embryons et des graines augmente encore de la même façon entre 10° et 16° C (Q_{10} voisin de 3), mais un peu moins que lorsque les fruits ont séjourné à 0° C. Par contre, la vitesse de germination des embryons n'augmente plus ($Q_{10} = 0,9$) et celle des graines diminue considérablement ($Q_{10} = 0,03$) entre 16° et 22° C, ce qui montre bien encore le rôle inhibiteur des enveloppes séminales.

3° Relation entre la capacité et la vitesse de germination. (se reporter à la figure 13).

1° **Cas des embryons dénudés.** — Quelle que soit la vitesse de germination, tous les embryons sont capables de germer.

2° **Cas des graines intactes.** — Il n'y a aucune relation entre la capacité et la vitesse de germination. Dans le cas des fruits traités 4 mois à 0° C, la vitesse de germination des graines intactes croît avec la température, mais le taux maximal de germination n'est plus que de 40 % à 22° C. Les graines des fruits traités 4 mois à 4° C voient leur vitesse de germination croître entre 10° et 16° C et décroître considérablement à 22° C, alors que la capacité de germination décroît régulièrement de 10 à 22° C.

4° Interprétation générale des résultats.

La variation individuelle des graines de chaque lot fait que nous pouvons grossièrement répartir ces graines en 2 fractions, *G* et *I* selon leur degré d'inhibition tégumentaire. La fraction *G* est celle pour laquelle la présence des enveloppes séminales inhibe peu la germination, et la fraction *I* celle pour laquelle l'inhibition tégumentaire est plus intense. Lorsqu'un lot de graines ayant même origine est placé dans des conditions de germination déterminées, la fraction *G* va germer, et elle germe d'autant plus vite que la température de germination est plus élevée. Dans les mêmes conditions la fraction *I* va germer beaucoup plus lentement ou même, bien souvent, ne pas germer du tout. L'importance respective de ces deux fractions varie avec la température de post-maturation et la température de germination.

Pour une même durée de traitement des fruits, l'intensité de l'inhibition tégumentaire augmente avec la température de germination et la température de traitement des fruits. C'est ce que nous avons essayé de préciser avec les variétés Stayman Winesap et Reinette du Mans dont les fruits sont placés à 0, 4, 7 et 12° C. Les pommes Stayman Winesap sont restées 110 jours à ces températures; les pommes Reinette du Mans y sont restées 135 jours. Les essais de germination ont lieu à 4, 7, 10, 12, 15, 18, 21, 25, 30 et 35° C et portent toujours sur les graines intactes et sur les embryons nus.

Quelle que soit la température de post-maturation capable de lever la dormance embryonnaire (0, 4 ou 7° C), les embryons nus germent normalement aux températures comprises entre 4° et 30° C. A 35° C ils germent moins bien et donnent souvent naissance à des plantules anormales. Les embryons provenant des fruits traités à 12° C sont capables de germer normalement aux températures inférieures à 10° C, mais seulement après que la dormance embryonnaire ait été levée par ces températures basses.

Les figures 15 et 16 représentent la capacité de germination des graines des deux variétés ainsi traitées. Ces graines ne germent bien

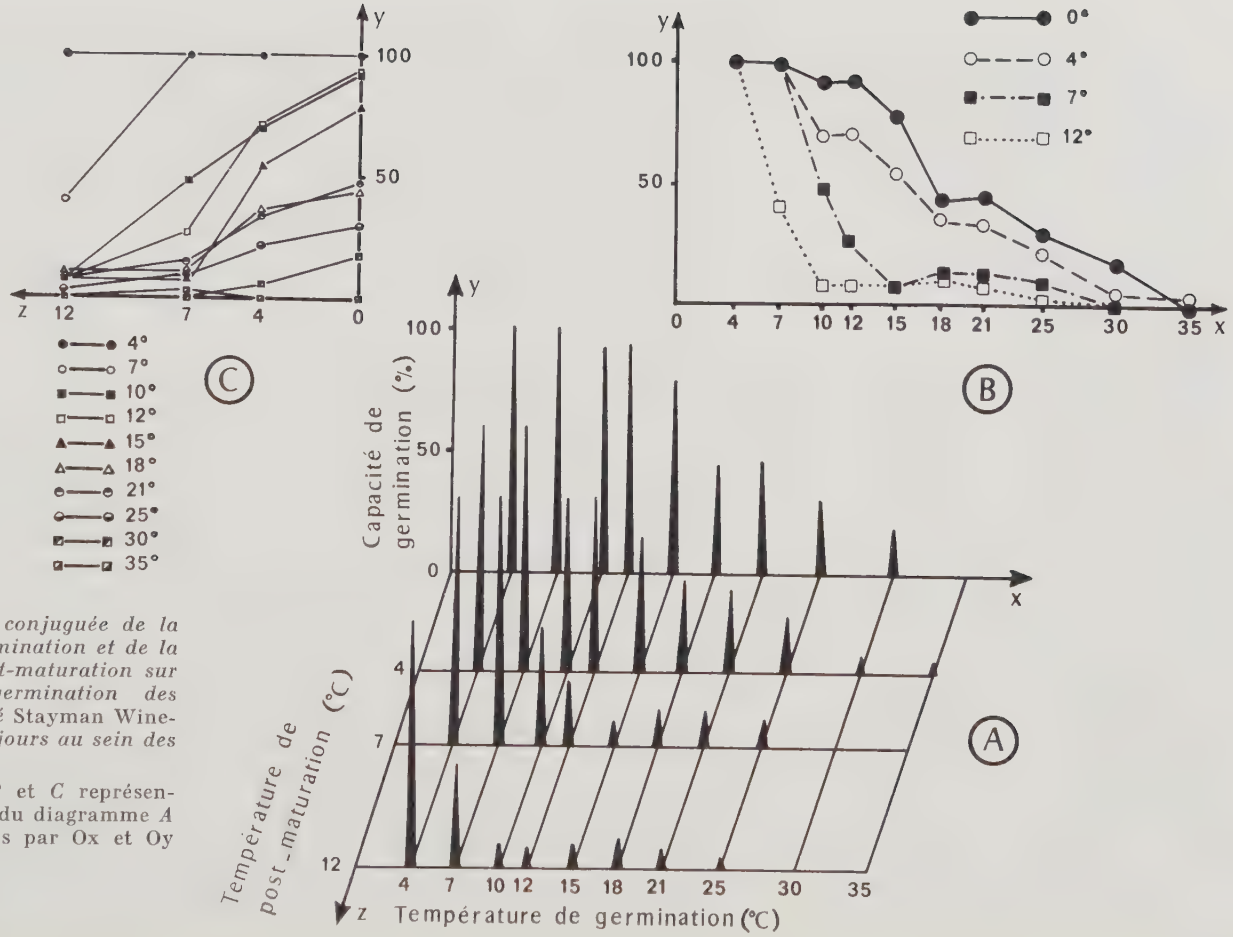

FIG. 15. — *Influence conjuguée de la température de germination et de la température de post-maturation sur la capacité de germination des graines de la variété* Stayman Winesap *prétraitées 110 jours au sein des fruits.*

Les graphiques *B* et *C* représentent les projections du diagramme *A* sur les plans définis par Ox et Oy et par Oy et Oz.

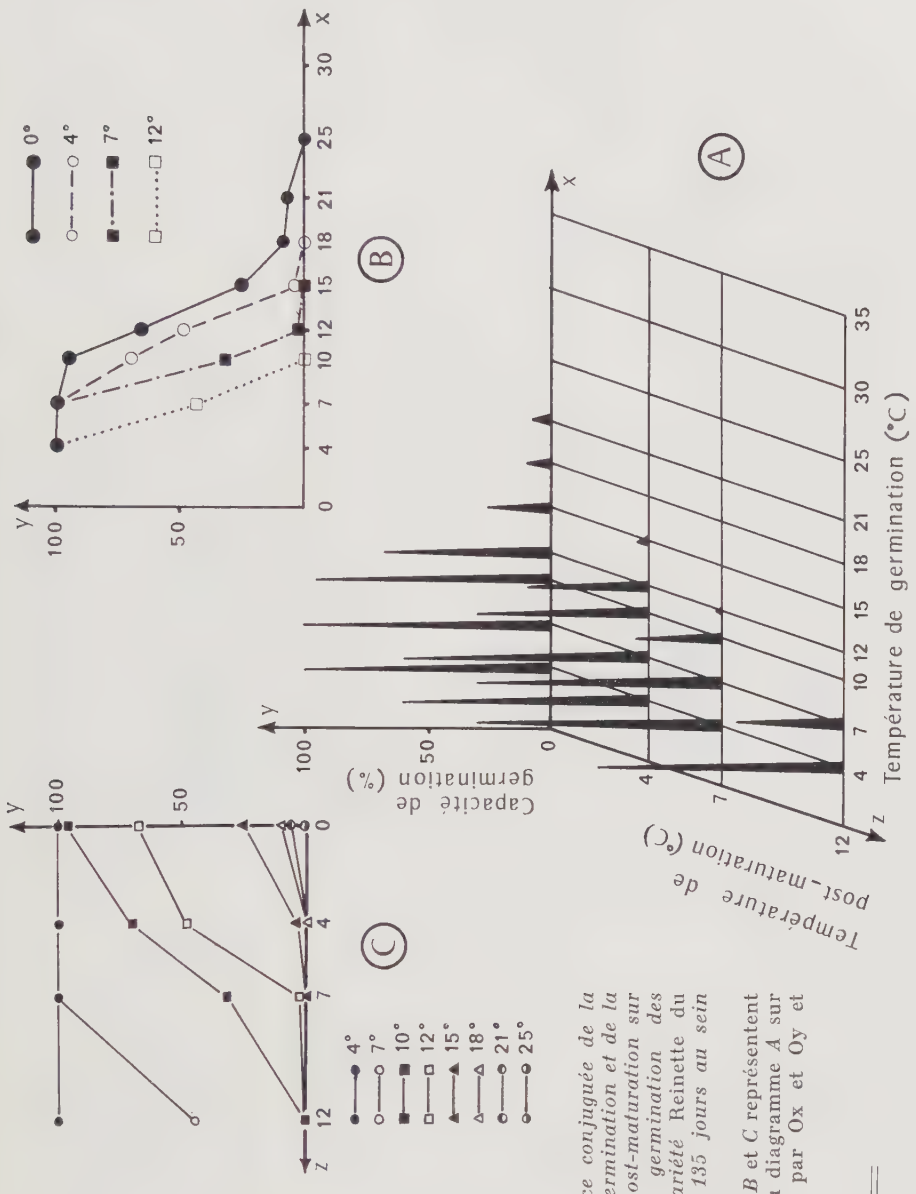

FIG. 16. — *Influence conjuguée de la température de germination et de la température de post-maturation sur la capacité de germination des graines de la variété* Reinette du Mans *prétraitées 135 jours au sein des fruits.*

Les graphiques *B* et *C* représentent les projections du diagramme *A* sur les plans définis par Ox et Oy et par Oy et Oz.

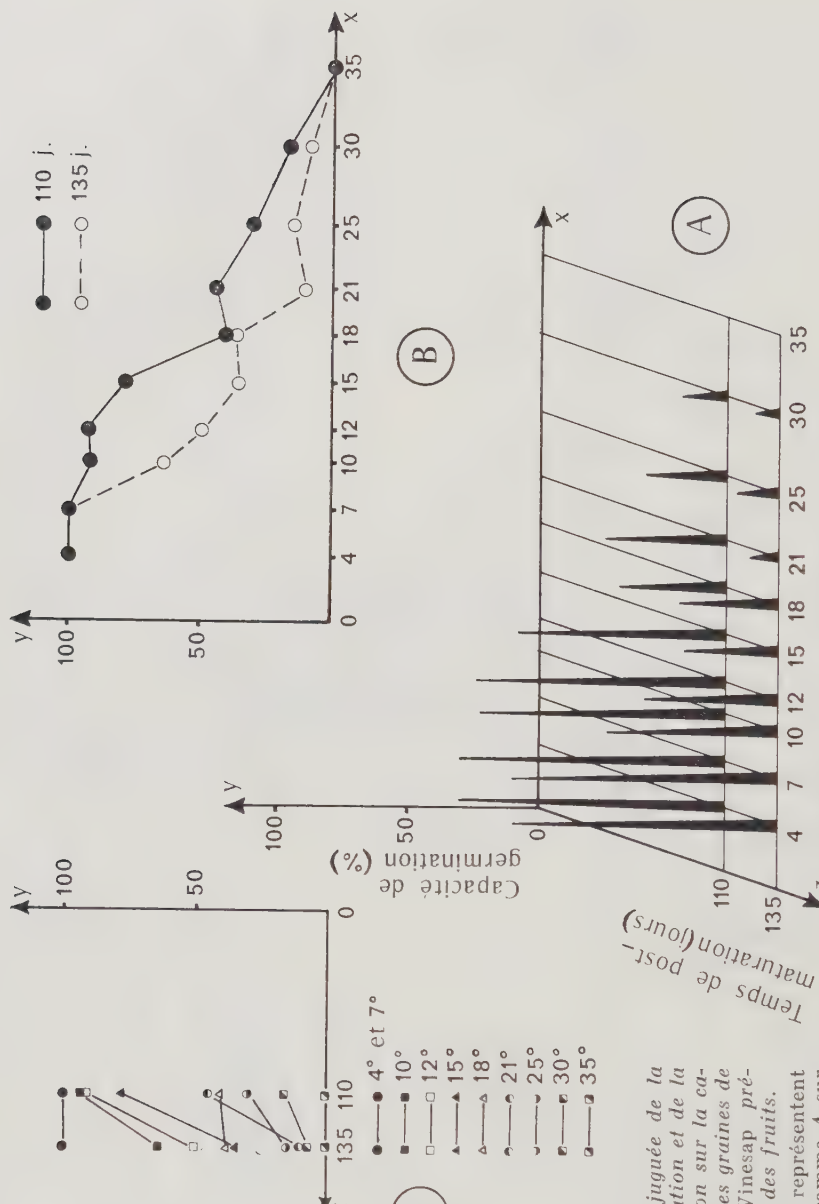

Fig. 17. — *Influence conjuguée de la température de germination et de la durée de post-maturation sur la capacité de germination des graines de la variété* Stayman Winesap *prétraitées à 0° C au sein des fruits.*

Les graphiques *B* et *C* représentent les projections du diagramme *A* sur les plans définis par Ox et Oy et par Oy et Oz.

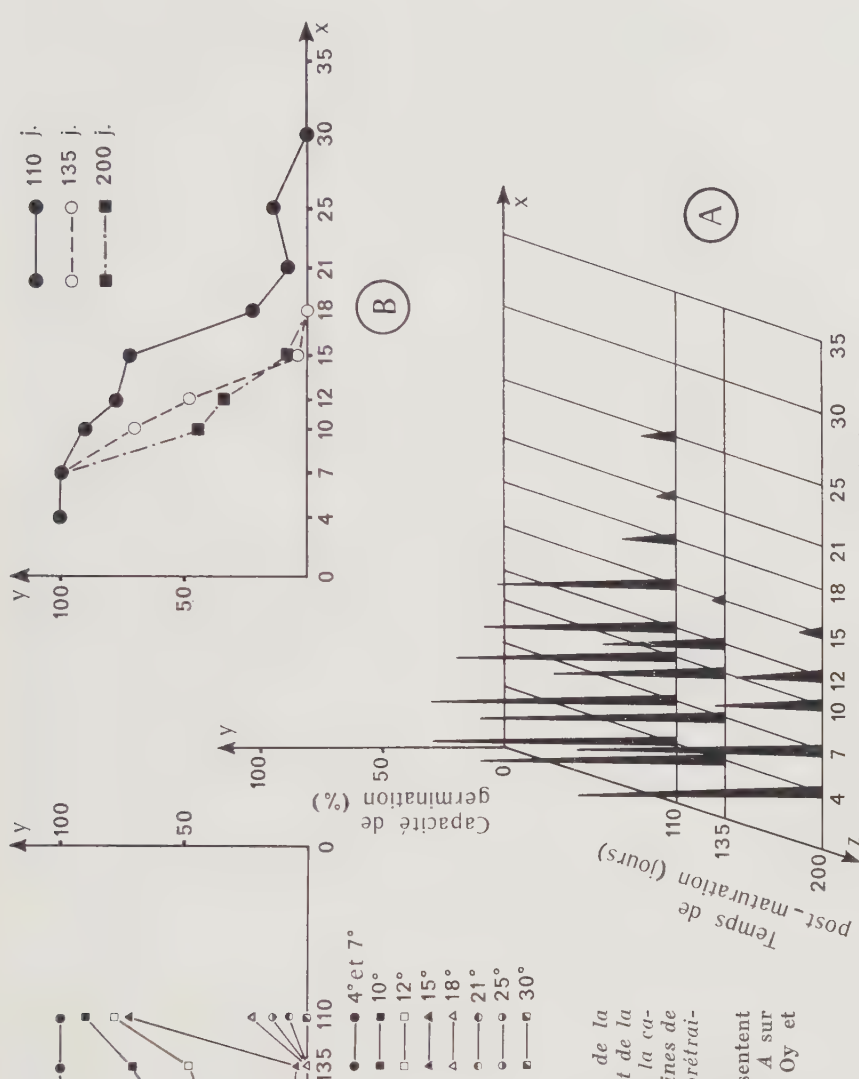

FIG. 18. — *Influence conjuguée de la température de germination et de la durée de post-maturation sur la capacité de germination des graines de la variété* Reinette du Mans *prétraitées à 4° C au sein des fruits.*

Les graphiques *B* et *C* représentent les projections du diagramme *A* sur les plans définis par Ox et Oy et par Oy et Oz.

qu'à des températures relativement basses; d'une façon générale, celles de la variété Stayman Winesap germent à des températures plus élevées que celles de la variété Reinette du Mans. Les graines provenant de fruits traités à 12° C sont capables de germer à 4° C et 7° C lorsque ces températures ont éliminé la dormance embryonnaire.

Quand la température de post-maturation s'élève, la température maximale permettant une germination convenable des graines se déplace vers les basses températures.

III. — INFLUENCE CONJUGUÉE DE LA TEMPÉRATURE DE GERMINATION ET DE LA DURÉE DE POST-MATURATION A UNE MÊME TEMPÉRATURE

La même étude a été conduite en faisant varier la durée du séjour des fruits à une même température.

Les résultats obtenus avec la variété Stayman Winesap traitée à 0° C (fig. 17) et la variété Reinette du Mans traitée à 4° C (fig. 18) — températures d'entreposage conseillées (Ulrich, 1954) — montrent que la température maximale permettant une germination convenable des graines se déplace encore vers les basses températures lorsque la durée de traitement des fruits augmente. Les embryons nus germent toujours très bien aux températures inférieures à 30° C dès qu'ils ne sont plus dormants.

Des résultats analogues sont obtenus avec la variété Stayman Winesap traitée à 4° C et la variété Reinette du Mans traitée à 0° C.

IV. — CONCLUSION

La germination des graines de Pommier prétraitées au sein des fruits est très fortement influencée par la température.

1° La température agit d'abord au niveau de l'embryon dont la germination normale exige une période convenable de froid humide.

2° La température agit ensuite au niveau des enveloppes, au cours du prétraitement. Parallèlement à la levée de dormance embryonnaire, il se développe une inhibition de germination d'origine tégumentaire dont l'intensité croît avec la température et la durée de traitement des fruits.

3° Pour un même lot de graines soumises au même traitement préalable au sein des fruits, la température intervient encore sur la vitesse et la capacité de germination. La vitesse de germination des embryons

dénudés croît avec la température et tous les embryons sont capables de germer jusqu'à 30° C quand ils ne sont plus dormants. *Le nombre de graines dont les enveloppes inhibent la germination augmente avec la température de germination.*

La température maximale à laquelle les graines peuvent germer s'abaisse quand la durée de traitement des fruits augmente et quand la température à laquelle est effectué ce traitement s'élève.

4° Pour les mêmes conditions de prétraitement des graines au sein de leurs fruits, l'inhibition tégumentaire est plus intense dans la variété Reinette du Mans que dans les variétés Reinette de Caux et Stayman Winesap.

Koblet (1937) et Abbott (1955) ont également noté que les graines de Pommier ne pouvaient germer à 20° C et plus qu'après avoir subi un prétraitement au froid. Borriss (1940) a proposé le terme de « dormance relative » pour le comportement des semences qui ne germent que dans un étroit intervalle de température. Les exemples de telles semences ne sont pas rares (Went, 1948; Vegis, 1961; Lang, 1965).

Chez le Pommier, l'inhibition tégumentaire n'existant que lorsque les graines subissent leur post-maturation en présence du péricarpe, nous pouvons penser que ce dernier fournit aux enveloppes séminales des inhibiteurs de germination. C'est dans ce sens que nous avons cherché à interpréter les résultats qui précèdent.

CHAPITRE V

RECHERCHE DU MÉCANISME DE L'INHIBITION TÉGUMENTAIRE

De très nombreuses substances naturelles sont capables d'inhiber la germination des graines. Elles font l'objet d'innombrables travaux dont on pourra trouver une synthèse dans diverses mises au point (par exemple : Evenari, 1949, 1957 *b*, 1961; Astié, 1962; Wareing, 1965). Ces inhibiteurs sont très largement distribués dans le règne végétal et, selon les espèces, divers organes peuvent en produire (Evenari, 1949; Astié, 1962). Leur nature est très variable et reste souvent inconnue.

Nous avons recherché s'il existe des substances de ce type dans les enveloppes des graines de Pommier inhibées.

I. — RECHERCHE D'INHIBITEURS DE GERMINATION DANS LES ENVELOPPES SÉMINALES

1° Méthodes d'études.

Les inhibiteurs de germination n'étant pas spécifiques (Froeschel, 1939 *a*, 1940; Konis, 1940; Stout et Tolman, 1941), diverses graines peuvent être utilisées pour mettre en évidence leur présence dans un organe végétal (Evenari, 1949). Cependant, pour tester la présence d'inhibiteurs dans les enveloppes des graines de Pommier inhibées, nous avons préféré utiliser des graines non dormantes et non inhibées de la même espèce. Nous voulons avoir la certitude que les inhibiteurs recherchés sont bien capables d'empêcher la germination des graines dont ils proviennent, car les mêmes graines ne réagissent pas de la même façon aux divers inhibiteurs (Evenari, 1949). Considérant d'autre part que, dans une semence, c'est l'embryon qui germe, les enveloppes n'ayant qu'un rôle passif, nous avons le plus souvent utilisé des embryons nus plutôt que des graines intactes. *Nous sommes, en effet, tenté de ne considérer comme inhibiteurs réels de la germination que les substances capables d'empêcher la germination des embryons isolés.* On peut concevoir que certaines substances agissent par l'intermédiaire des enveloppes sans gêner directement la germination des embryons. Ce sont alors les enveloppes et non les substances étudiées, qui sont inhibitrices. D'autre part, un inhibiteur apporté de façon exogène à la graine ne traverse pas nécessairement facilement les enveloppes séminales.

Trois méthodes ont été utilisées pour rechercher des inhibiteurs de germination dans les enveloppes séminales de Pommier.

1° **Ensemencement des graines sur un extrait aqueux d'enveloppes séminales.** — Des extraits aqueux d'enveloppes de graines de Pommier inhibées de diverses origines sont réalisés sous azote, car ils brunissent très vite en présence d'oxygène. Des extraits éthanoliques évaporés à sec, puis repris par de l'eau, sont également utilisés. Diverses concentrations des extraits sont employées :

— ou bien des graines non dormantes et non inhibées ou des embryons non dormants sont ensemencés sur du coton imprégné de ces extraits;

– ou bien les graines et embryons-tests sont plongés plus ou moins longtemps (jusqu'à 24 heures) dans les extraits avant d'être ensemencés sur de l'eau distillée.

Cette technique présente des inconvénients. Il est possible que les inhibiteurs ne s'extraient pas facilement ou qu'ils subissent une altération au cours de l'extraction. THIMANN (1963) fait, en outre, remarquer que la présence, dans un extrait d'organe, d'une substance inhibitrice, ne prouve pas avec certitude l'existence d'une telle fonction *in vivo*.

2° **Ensemencement de graines non inhibées en présence de graines inhibées.** — La technique utilisée ici rappelle celle de FROESCHEL (1939 *a* et *b*). Les essais de germination ont lieu sur de l'eau distillée. Plusieurs variantes sont possibles.

— Les graines ou les embryons-tests sont ensemencés simultanément avec des graines inhibées.

— Des graines inhibées sont ensemencées au centre de la boîte de Pétri et les embryons ou les graines-tests sont disposés sur des cercles concentriques autour de ces graines inhibées.

— Les graines inhibées sont ensemencées seules. On ajoute ensuite à ces graines, au bout de temps variables allant jusqu'à 72 heures, des embryons ou des graines-tests.

3° **Substitution des enveloppes d'une graine non inhibée par les enveloppes d'une graine inhibée.** — Dans la technique précédente, on peut objecter

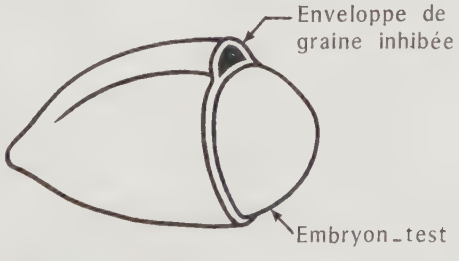

FIG. 19.

Introduction d'un embryon non dormant dans les enveloppes d'une graine inhibée.

que les inhibiteurs éventuels doivent diffuser dans le milieu de culture et peuvent subir une altération au cours de cette diffusion. Pour éliminer cette critique, nous avons introduit des embryons non dormants dans des enveloppes de graines inhibées (fig. 19).

Tous nos essais de germination ont lieu à 18° C.

2° Résultats.

La germination des graines intactes est parfois très légèrement gênée par un tel traitement, mais pas d'une façon suffisante pour que nous puissions expliquer l'inhibition tégumentaire par la présence d'inhibiteurs diffusibles dans les enveloppes séminales. Evans (1961) a prouvé l'existence d'inhibiteurs de germination dans les graines de Pommier dormantes. Petrov et Tjankova (1962) constatent que les extraits aqueux des graines de Pommier non stratifiées inhibent la germination des graines stratifiées; ces extraits renferment du tryptophane qui est un inhibiteur puissant de la germination. Mais rappelons que les graines étudiées par ces auteurs ne sont pas dans le même état physiologique que les nôtres. Les leurs sont des graines *dormantes*; les nôtres sont des graines *inhibées* par suite de leur traitement au sein des fruits.

Quant aux embryons nus, ils germent toujours très bien quel que soit le traitement auquel ils sont soumis. Ils germent même parfaitement lorsqu'ils sont introduits dans des enveloppes de graines inhibées. Ces embryons ne sont pas étroitement moulés par les enveloppes comme dans une graine normale, et l'enveloppe n'est pas complète. Leur germination doit être possible dans ces conditions parce que leur aération est facilitée. Quoi qu'il en soit, ces résultats prouvent, de façon certaine, qu'*il n'y a pas, dans les enveloppes des graines inhibées, de substances inhibitrices capables d'empêcher la germination des embryons.*

Nous avons alors recherché si les enveloppes des graines de Pommier renferment d'autres substances capables d'intervenir dans la germination.

II. — RECHERCHE DE SUBSTANCES TÉGUMENTAIRES POUVANT INTERVENIR DANS LA GERMINATION

1° Fait d'observation.

Lorsque des graines de Pommier sont mises à germer sur du coton humide, un fait frappant est le brunissement intense du milieu de culture qui naît rapidement au niveau de chaque graine et s'étend progressivement à toute la culture. Ce brunissement n'a pas lieu avec les embryons nus. Les enveloppes des graines de Pommier renferment donc au moins une substance diffusible brune ou qui brunit à l'air. Nous avions d'abord pensé qu'il s'agissait d'un inhibiteur de germination, mais nous avons vu qu'il n'en est rien.

2° Caractères des extraits tégumentaires.

Les extraits aqueux brunissent très vite à l'air. Les extraits alcooliques (méthanol ou éthanol absolus ou éthanol à 80 %) sont peu colorés et ne brunissent pas. Ces observations font penser à l'oxydation enzymatique de substances phénoliques et rappellent le brunissement des fruits blessés et des jus de fruits (Bogdanski, 1950; Joslyn et Ponting, 1951; Hulme, 1953; Weurman et Swain, 1953; Ulrich, 1958; Bedrosian, Nelson et Steinberg, 1959; Walker, 1962, 1964). De l'acide ascorbique ajouté aux extraits aqueux empêche leur brunissement, comme dans le cas des jus de fruits (Ponting et Joslyn, 1948; Legrand et Bogdanski, 1950; Bogdanski, 1957).

L'étude chromatographique des extraits tégumentaires nous a montré qu'ils sont effectivement très riches en composés phénoliques.

3° Mise en évidence par chromatographie des phénols tégumentaires.

1° **Technique.** *a)* Extraction. — Les enveloppes séminales sont laissées à sécher au laboratoire ou lyophilisées dès leur prélèvement, et broyées au broyeur à billes type Dangoumau jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène très fine. Une bonne extraction des composés phénoliques de cette poudre est obtenue par l'éthanol absolu à ébullition pendant une heure. Le séchage des enveloppes étant très rapide, nous n'avons enregistré aucune différence entre les extraits d'enveloppes séchées et ceux d'enveloppes lyophilisées.

b) Chromatographie. — Les extraits sont concentrés sous vide partiel et chromatographiés, en chromatographie descendante, sur papier Whatman n° 3, dans le mélange butanol-éthanol-acide acétique à 2 % (4, 1, 2 vol/vol) en première dimension et l'acide acétique à 2 % en seconde dimension.

c) Révélation des chromatogrammes. — L'observation des chromatogrammes en lumière ultra-violette permet de localiser les taches de phénols grâce à leur fluorescence généralement renforcée par les vapeurs d'ammoniaque.

La révélation des chromatogrammes par le nitrate d'argent ammoniacal 0,1 N et l'acide sulfanilique diazoté ou la *p*-nitraniline diazotée préparés comme l'indique C. Martin (1958), fournit de bons résultats.

2° **Résultats** (fig. 20 et tableau XII). — Les chromatogrammes obtenus montrent, en première dimension, trois phénols essentiels (numérotés 1, 2 et 3) qui se révèlent facilement. En seconde dimension, les taches 1 et 2 se dédoublent (1′ et 1″, 2′ et 2″).

Le composé 3 est très nettement le plus abondant. Le composé 2 n'existe qu'en faible quantité.

Aucune différence ne peut être décelée par chromatographie, selon l'origine des enveloppes séminales.

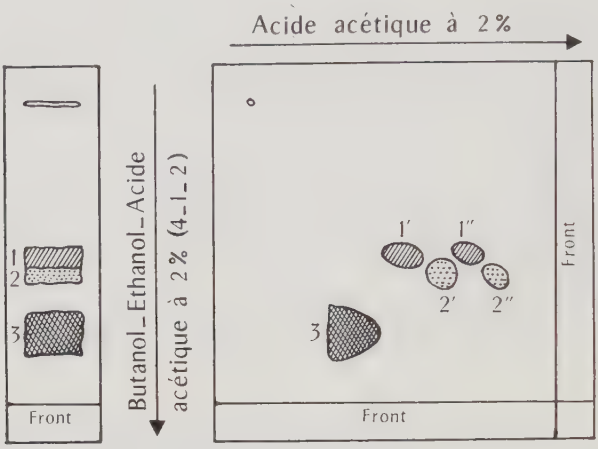

Fig. 20. — *Aspect d'un chromatogramme unidimensionnel et d'un chromatogramme bidimensionnel d'un extrait alcoolique de phénols tégumentaires, observés en lumière ultra-violette.* Les taches 1 et 2 se dédoublent en seconde dimension (1′ et 1″; 2′ et 2″).

Tableau XII. — Caractéristiques chromatographiques des trois principaux composés phénoliques des enveloppes séminales de Pommier

Taches	Rf		Fluorescence		Révélation
	Butanol-éthanol-acide acétique à 2 % (4, 1, 2)	Acide acétique à 2 %.	Sans NH_3	Avec NH_3	
1	0,56		Bleu.	Vert.	++
1′		0,53			
1″		0,71			
2	0,63		Bleu (faible).	Bleu vif.	±
2′		0,63			
2″		0,80			
3	0,77	0,36	Opacité.	Opacité plus nette.	++++

4° *Essai d'identification des phénols tégumentaires.*

1° **Identification des composés 1 et 3.** — La nature de ces composés a été déterminée par :

— leur fluorescence en lumière ultra-violette (tableau XII);

— les spectres d'absorption en lumière ultra-violette de leurs éluats alcooliques (fig. 21);

— la chromatographie d'extraits tégumentaires en présence de substances témoins commerciales (produits Fluka).

Il s'agit de *l'acide chlorogénique* (composé 1) et de la *phloridzine* (composé 3).

Les taches 1′ et 1″ obtenues par chromatographie dans l'acide acétique à 2 %, semblent être deux isomères de l'acide chlorogénique.

2° **Identification du composé 2.** — Ce composé existe en quantité beaucoup trop faible pour que nous ayons pu obtenir son spectre. Nous

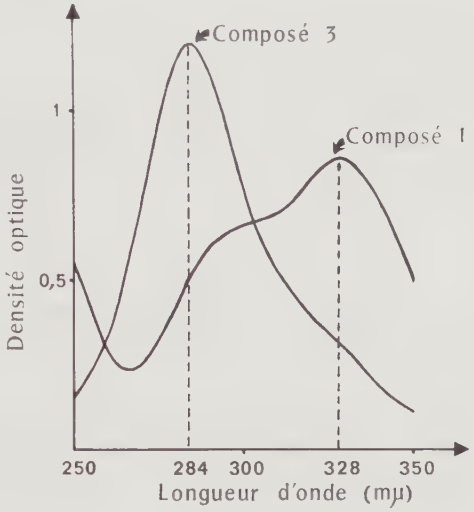

Fig. 21.

Spectres d'absorption des radiations ultra-violettes des éluats alcooliques des taches 1 et 3.

Composé 1 : acide chlorogénique.

Composé 3 : phloridzine.

n'avons pas trouvé de substance commerciale qui ait les mêmes caractéristiques chromatographiques.

Son identification a pu être faite par hydrolyse acide ou basique des éluats de la tache correspondante, selon la technique utilisée par Cavalié (1964) :

— hydrolyse acide : ClH 2N, au bain-marie bouillant pendant une heure;

— hydrolyse basique : NaOH 2N, sous azote, pendant une nuit.

Nous avons ainsi pu mettre en évidence les deux constituants du composé 2 : l'acide *para*-coumarique et l'acide quinique. Le composé 2 est donc de l'acide *para-coumaryl-quinique*.

Cette technique nous a permis, en outre, de montrer que les composés 2′ et 2″ sont des isomères de l'acide *para*-coumaryl-quinique et de confirmer que les composés 1′ et 1″ sont des isomères de l'acide chlorogénique. Il s'agit vraisemblablement des isomères *cis* et *trans* de ces deux composés.

5° Conclusion.

Les enveloppes séminales de Pommier sont riches en composés phénoliques dont les plus importants sont :

— l'acide chlorogénique,
— l'acide *para*-coumaryl-quinique,
— et surtout la phloridzine.

L'acide chlorogénique est très répandu chez les plantes supérieures; chez le Pommier, on en trouve dans les organes végétatifs (Bradfield, Flood, Hulme et Williams, 1952) et surtout dans les fruits (Hulme, 1953; Williams, 1960). L'acide *para*-coumaryl-quinique existe en petites quantités dans les pommes (Williams, 1960). La phloridzine est le principal glucoside phénolique des feuilles et de l'écorce du Pommier (Priestley, 1959; Hutchinson, Taper et Towers, 1959; Grochowska, 1966) et semble être localisée au genre *Malus*. Sa présence a été signalée aussi dans le cœur des fruits (Durkee et Poapst, 1965) et dans les graines (Hutchinson, Taper et Towers, 1959; Durkee et Poapst, 1965).

III. — COMMENT LES PHÉNOLS TÉGUMENTAIRES PEUVENT-ILS INTERVENIR DANS LA GERMINATION ?

Les acides phénoliques sont fortement inhibiteurs de la croissance aux concentrations proches de 10^{-3} M (Nitsch J. P. et Nitsch C., 1961 et 1962; Henderson et Nitsch J. P., 1962; Guern, 1964). L'inhibition de croissance des tissus végétaux provoquée par la phloridzine (Thimann et Marré, 1954; Hancock, Barlow et Lacey, 1961; Grochowska, 1963 et 1964) s'explique par une stimulation de l'action de l'acide indolacétique oxydase (Stenlid, 1963).

L'acide cinnamique (Bonner et Galston, 1944) et les acides phénoliques qui en dérivent sont des inhibiteurs de germination (Massart, Belpaire, Vernie, de Roubaix et Lazar, 1956; de Roubaix et Lazar, 1960; van Sumere, 1960); mais seules les fortes concentrations en acides phénoliques ont une telle action. Mayer et Poljakoff-Mayber (1963) insistent sur le caractère particulier de l'inhibition de germination causée par les substances phénoliques; elle ne peut être supprimée par aucun des facteurs classiques de la levée de dormance. Pour Akkerman et Veldstra (1947), l'acide caféique et l'acide férulique isolés des fruits charnus jouent le rôle de blastokolines. L'inhibiteur β serait l'inhibiteur de croissance et de germination des fruits charnus. Or, l'inhibiteur β semble être un complexe de substances phénoliques (Börner, 1955; Varga, 1957; Köves, 1957).

Nous avons essayé de vérifier si l'acide chlorogénique et la phloridzine inhibent la germination des graines de Pommier.

1° Comportement des graines de Pommier en présence de composés phénoliques.

Des graines et des embryons de Pommier (variété Reinette du Mans), prélevés dans des fruits ayant séjourné 2 mois et demi à 4° C, sont mis à germer à 18° C sur des solutions aqueuses d'acide chlorogénique (concentration allant de 10^{-5} M à 1,5. 10^{-3} M). On sait qu'à cette température de germination les graines ainsi préalablement traitées sont partiellement inhibées alors que les embryons ne sont plus dormants. La germination des graines et des embryons n'est pas gênée par la présence d'acide chlorogénique dans le milieu de culture (tableau XIII).

Tableau XIII. — Germination, a 18° C, des graines (G) et des embryons (E) (var. *Reinette du Mans*), en présence d'acide chlorogénique. Prétraitement de 2 mois et demi a 4° C au sein des fruits.

Milieu de culture		Eau	Acide chlorogénique							
			10^{-5} M	2,5. 10^{-5} M	5. 10^{-5} M	10^{-4} M	2,5. 10^{-4} M	5. 10^{-4} M	10^{-3} M	1,5. 10^{-3} M
Capacité de germination (%).	G	53	59	47	48	58	51	57	58	54
	E	99	100	98	99	100	97	100	99	98

Par ailleurs, des graines de Pommier de la variété Reinette du Mans ont été mises à 4° C dès la récolte, en présence d'une solution aqueuse saturée de phloridzine. La phloridzine n'a pas gêné la post-maturation des graines et n'a pas entraîné le développement d'une inhibition tégumentaire.

Dans notre cas, nous ne pouvons donc pas considérer que l'acide chlorogénique et la phloridzine sont des inhibiteurs de germination. Mais nous savons que ces corps sont très oxydables. Nous avons alors pensé que les constituants phénoliques des enveloppes séminales de Pommier pouvaient intervenir dans la germination grâce à cette propriété.

2° Mise en évidence de l'oxydation des composés phénoliques au sein des enveloppes.

1° **Technique d'étude.** — Cette étude est faite à l'aide de l'appareil de Warburg, à la température de 25° C. Pour isoler les enveloppes séminales, les graines sont sectionnées en deux moitiés dans le sens longi-

tudinal et les embryons sont enlevés. Chaque fiole renferme 10 demi-enveloppes qui reposent sur 0,5 ml d'eau. De la potasse à 20 % (0,2 ml) est introduite dans la tubulure centrale de la moitié des fioles.

2° **Résultats.** — A titre d'exemple, la figure 22 fournit les résultats obtenus avec les enveloppes de graines de Pommier de la variété Reinette de Caux prélevées dans des fruits ayant séjourné 155 jours à 4° C. Pour comparaison, nous avons porté sur le même graphique l'absorption d'oxygène par les embryons nus et les graines intactes. Les enveloppes séminales fixent de l'oxygène en quantité non négligeable puisque, pendant les premières heures de la mesure, elles

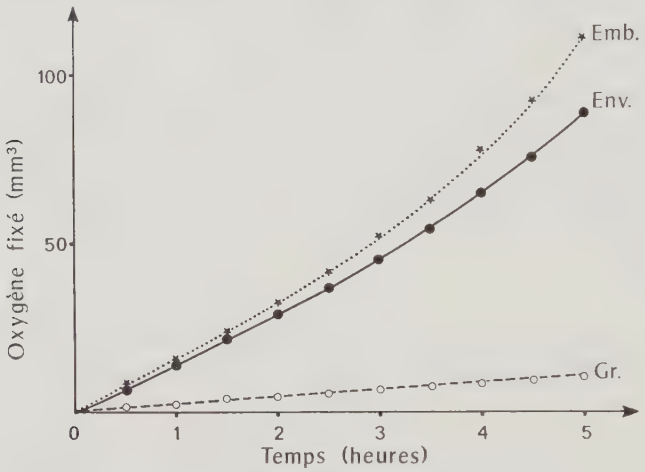

FIG. 22. — *Absorption d'oxygène par 100 mg de matière fraîche. Var.* Reinette de Caux : *fruits 155 jours à 4° C.*

Mesure faite à 25° C. *Emb.* : embryons. *Env.* : enveloppes séminales. *Gr.* : graines intactes.

absorbent autant d'oxygène que les embryons qui germent facilement. La différence enregistrée avec les enveloppes isolées et les graines intactes s'explique par le fait que la section des enveloppes en deux moitiés met l'enveloppe interne au contact du milieu extérieur. Il suffit en effet d'isoler les enveloppes en sectionnant la graine transversalement, et de remplacer l'embryon par du coton humide afin que seule l'enveloppe externe soit au contact du milieu extérieur, pour que l'absorption d'oxygène par ces enveloppes et les graines intactes soit du même ordre. Il semble donc que c'est l'enveloppe interne qui fixe le plus d'oxygène. Nous avons d'ailleurs vérifié ce fait en faisant la même mesure avec des enveloppes externes et internes séparées. A masse égale, les enveloppes internes fixent toujours beaucoup plus d'oxygène que les enveloppes externes (fig. 23).

Avec les enveloppes séminales, le rapport CO_2 dégagé/O_2 absorbé est toujours très faible. Il est généralement inférieur à 0,5, alors que celui des embryons et des graines intactes est respectivement voisin

de 1 et de 0,6-0,7. Ce résultat contraste avec les fortes valeurs du quotient respiratoire enregistrées avec de nombreuses graines au début de l'imbibition (Brown, 1965).

3° **Interprétation.** – *Les enveloppes séminales de Pommier fixent de l'oxygène.* La faiblesse du « quotient respiratoire » ne peut s'expliquer par la respiration de ces enveloppes qui sont d'ailleurs constituées en partie de tissus morts. L'explication la plus plausible nous semble être la superposition, à la respiration, d'une oxydation des phénols tégu-

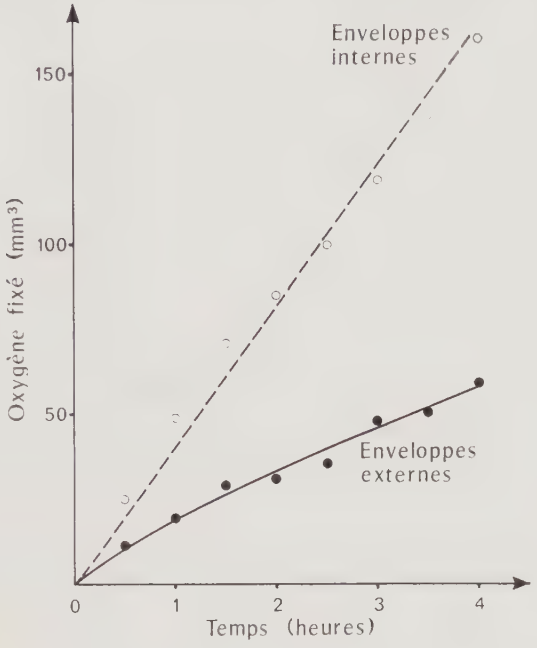

Fig. 23.

Absorption d'oxygène par 100 mg (matière fraîche) *d'enveloppes internes et d'enveloppes externes.* Var. *Reinette de Caux :* fruits 155 jours à 4° C. Mesure faite à 25° C.

mentaires; mais il est difficile de faire la part des échanges gazeux qui revient à la respiration et à l'oxydation des phénols, car on sait que cette dernière se fait avec un dégagement de gaz carbonique par décarboxylation des acides phénoliques (Mason, 1955; Franke, 1960). Par exemple, le pyrogallol consomme 2,2 atomes d'oxygène par molécule et une molécule de gaz carbonique est émise pour deux molécules oxydées (Roberts et Wood, 1950). Lors de l'oxydation des phénols, la consommation finale d'oxygène, l'émission de gaz carbonique et la production de polymères indiquent que l'oxydation dépasse bien le stade de quinones, mais les produits finaux n'ont pas été caractérisés (Mason, 1955).

Afin de vérifier notre interprétation, plusieurs séries d'expériences ont été conduites à l'appareil de Warburg.

a) Absorption d'oxygène par un extrait tégumentaire. — Un extrait alcoolique de phénols tégumentaires est évaporé à sec et repris

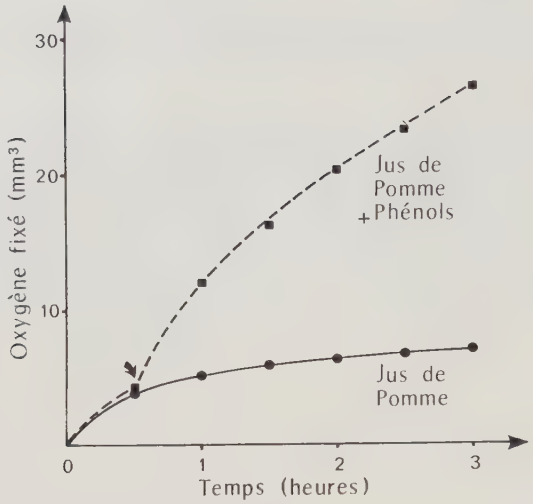

FIG. 24.

Absorption d'oxygène par du jus de pomme auquel est ajouté un extrait de phénols tégumentaires (la flèche indique à quel moment est effectué le mélange).

Mesure faite à 25° C.

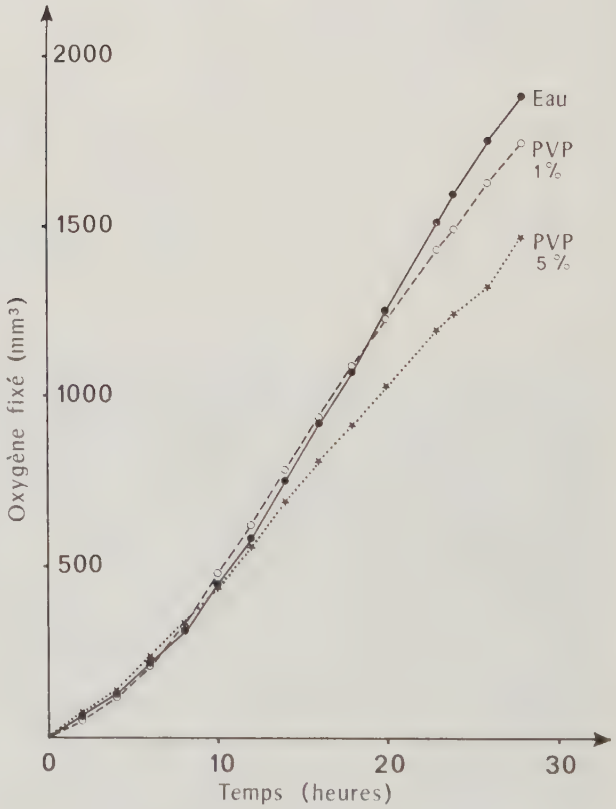

FIG. 25.

Action de la polyvinyl-pyrrolidone (PVP) *sur l'absorption d'oxygène par 100 mg* (matière fraîche) *d'enveloppes internes de graines de Pommier* (var. *Reinette du Mans*).

Mesure faite à 25° C, dès la récolte des fruits.

par un peu d'eau. Si les enveloppes séminales sont mises en présence de cette solution aqueuse de phénols tégumentaires, nous n'enregistrons aucune absorption supplémentaire d'oxygène, soit parce que les phénols ne pénètrent pas dans les enveloppes, soit parce que celles-ci sont déjà très riches en phénols comme nous le verrons par la suite. Par contre, l'expérience suivante prouve bien que les phénols tégumentaires peuvent s'oxyder. Des pommes sont broyées au broyeur « Turmix ». 1 ml de jus obtenu est placé dans une fiole de Warburg. Une seconde fiole renferme en outre, dans le bras latéral, 0,5 ml de la solution aqueuse de phénols tégumentaires. Le jus de pomme seul, riche en enzymes, s'oxyde à l'air en absorbant un peu d'oxygène, surtout en début d'expérience (fig. 24). Le mélange de la solution de phénols et de jus de pomme, effectué après 30 minutes de mesure, provoque une absorption supplémentaire d'oxygène extrêmement nette.

b) Inhibition de l'oxydation des phénols tégumentaires. — Nous avons cherché à inhiber l'oxydation des phénols tégumentaires par des solutions de polyvinylpyrrolidone (PVP) à 1 % et 5 %. Des résultats nets n'ont été obtenus qu'avec les enveloppes internes mises en présence d'une solution de PVP à 5 %. L'inhibition n'est d'ailleurs visible qu'après plus de 10 heures de mesure (fig. 25) et n'est que de 20 % environ après 28 heures. La répétition des mesures a toujours fourni les mêmes résultats. L'inhibition n'est donc pas « spectaculaire », mais elle existe; il est sans doute difficile d'inhiber l'oxydation des phénols au sein des enveloppes séminales car, répétons-le, ils sont très abondants et le PVP doit mal pénétrer dans les enveloppes.

4° **Conclusion.** — *Les phénols tégumentaires semblent être en partie responsables de la fixation d'oxygène par les enveloppes séminales du Pommier.*

IV. — HYPOTHÈSE SUR LE MÉCANISME DE L'INHIBITION TÉGUMENTAIRE

1° Interprétation des faits précédents.

De l'ensemble des résultats exposés précédemment, les quelques faits essentiels suivants nous permettent de penser que les enveloppes séminales de Pommier constituent un écran physique et chimique au passage de l'oxygène vers l'embryon.

1° Il n'existe pas de substances tégumentaires diffusibles capables d'empêcher la germination des embryons.

2° L'oxygène ne peut traverser une enveloppe séminale imbibée que par dissolution dans l'eau d'imbibition, ce qui limite fortement la diffusion de l'oxygène vers l'embryon.

3° Les enveloppes séminales sont très riches en substances phénoliques qui sont capables de s'oxyder au sein des enveloppes.

Nous sommes donc conduit à l'hypothèse suivante : *L'inhibition tégumentaire serait due essentiellement à l'absorption, par les substances phénoliques, d'une partie au moins de l'oxygène qui pénètre par dissolution dans les enveloppes séminales imbibées; la quantité d'oxygène qui atteint l'embryon serait alors trop faible pour permettre sa germination* (hypothèse schématisée par la figure 26).

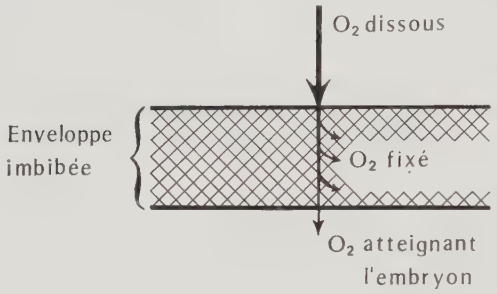

FIG. 26.

Schéma d'interprétation du mécanisme de l'inhibition tégumentaire.

2° Critique de l'hypothèse.

La critique essentielle que l'on peut faire à cette hypothèse est celle-ci : quand tous les phénols tégumentaires sont oxydés, l'oxygène peut traverser les enveloppes et la germination doit être possible. Or, nous avons vu, dans nos essais de germination, que lorsque des graines non dormantes ne germent pas, soit parce que la durée du prétraitement à une température donnée est trop grande, soit parce que la température de germination est trop élevée, elles ne germent jamais si elles sont maintenant dans les mêmes conditions. Elles perdent même progressivement la faculté de germer à température plus basse. C'est ainsi que des graines qui germent parfaitement à 18° C ne germent plus à cette température si elles ont d'abord été ensemencées pendant 3 ou 4 semaines à 25° C par exemple. L'ablation des enveloppes de telles graines prouve que les embryons ont fait retour à un état de dormance. Les graines deviennent donc incapables de germer, même si les enveloppes séminales ne sont plus inhibitrices. La dormance secondaire ne se distingue en rien de la dormance primaire; elle est levée par une nouvelle période de froid humide et les enveloppes ne sont plus inhibitrices après ce traitement. Il est difficile toutefois de savoir si l'élimination de cette inhibition est due au fait que les phénols tégumentaires sont oxydés. C'est peut-être le nouveau traitement par le froid humide qui en est responsable.

Nous avons toujours constaté, comme ABBOTT (1955) et VISSER (1956 *a*), que l'ensemencement des graines de Pommier non dormantes dans des conditions défavorables à leur germination (température trop

élevée par exemple) induit une dormance secondaire. Ce fait est d'ailleurs assez général et se retrouve chez de nombreuses autres semences (Barton, 1965 *a*).

Un autre argument que l'on peut avancer pour répondre à la critique de notre hypothèse est le fait que les enveloppes séminales de Pommier sont très riches en composés phénoliques dont l'oxydation totale doit être suffisamment longue pour permettre le développement de la dormance secondaire. Le dosage de la phloridzine de ces enveloppes, effectué dans le cadre de la vérification de notre hypothèse, objet du chapitre suivant, nous fournit la preuve de leur remarquable richesse en composés phénoliques.

CHAPITRE VI

VÉRIFICATION DE L'HYPOTHÈSE FONDÉE SUR L'OXYDATION DES PHÉNOLS

L'analyse chromatographique d'extraits tégumentaires nous ayant montré que la phloridzine est le composé phénolique le plus abondant, nous avons cherché à doser cette substance pour avoir une idée de la richesse en phénols des enveloppes séminales.

I. — DOSAGE DE LA PHLORIDZINE DES ENVELOPPES SÉMINALES DE POMMIER

1° Technique de dosage.

G. C. Martin et Williams (1964) proposent trois méthodes pour doser le contenu en phloridzine d'un organe végétal. Nous avons choisi la première d'entre elles qui consiste à lire directement au spectrophotomètre la densité optique d'un extrait alcoolique brut à son maximum d'absorption, et à déterminer graphiquement, grâce à une courbe étalon, la quantité de phloridzine correspondante.

1° **Extraction.** — La technique d'extraction préconisée par G. C. Martin et Williams (1964) a été adaptée à notre matériel. Les enveloppes séminales sèches sont réduites en poudre homogène au broyeur à billes type Dangoumau. 100 mg de cette poudre sont traités par 40 ml d'éthanol à 80 %, à ébulition pendant 4 heures. L'extrait est filtré à chaud et la poudre rincée 5 fois par 2 ml d'éthanol à 80 % chaud. La poudre est reprise par 40 ml d'éthanol à 80 % à ébullition pendant une heure. Le nouvel extrait est filtré et ajouté au premier et la poudre est rincée par des fractions de 2 ml d'éthanol à 80 % chaud jusqu'à l'obtention de 100 ml d'extrait ramené à la température ambiante. Nous avons vérifié qu'un nouvel extrait ne renferme plus de phénols.

2° **Dosage.** — Les spectres d'absorption en lumière ultra-violette d'une solution alcoolique de phloridzine pure (produit Fluka) et d'un

extrait total de phénols tégumentaires sont presque identiques (fig. 27). La seule différence réside dans une légère ondulation du spectre de l'extrait au voisinage de 325 mμ. Le maximum d'absorption, dans les deux cas, se situe à 284 mμ avec notre spectrophotomètre PERKIN-ELMER type 4 000 A. Pour G. C. MARTIN et WILLIAMS (1964), ce maximum se situe à 283 mμ. Les phénolates de l'extrait et de la solution de phloridzine, obtenus par addition d'une goutte de solution de soude dans la cuve du spectrophomètre, sont iden-

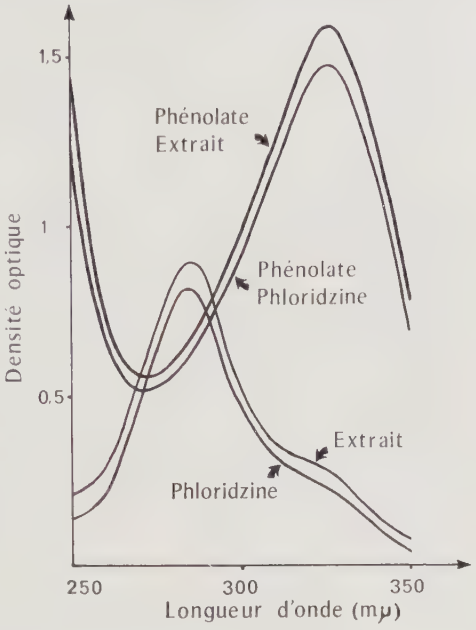

FIG. 27. — *Spectres d'absorption d'une solution éthanolique de phloridzine pure et d'un extrait total de phénols tégumentaires.*

Spectres des phénolates correspondants.

tiques, avec un maximum à 326 mμ et un minimum au voisinage de 270-275 mμ (fig. 27). Les extraits tégumentaires semblent donc renfermer essentiellement de la phloridzine.

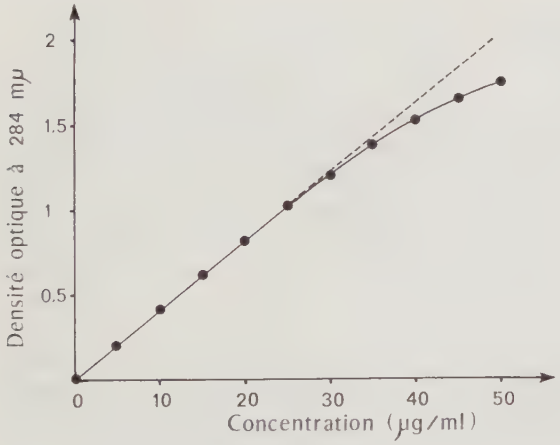

FIG. 28.

Courbe étalon servant au dosage de la phloridzine : variation de la densité optique à 284 mμ, en fonction de la concentration de la solution en phloridzine.

La densité optique de l'extrait total à 284 mμ, reportée sur une courbe étalon (fig. 28), nous fournit la teneur en phloridzine de notre extrait. La courbe étalon est une droite pour des concentrations infé-

rieures à 25 µg/ml correspondant à une densité optique inférieure à 1. C'est donc dans cette zone qu'est effectué le dosage. Pour cela il nous faut diluer deux fois les 100 ml d'extrait obtenus à partir de 100 mg d'enveloppes séminales sèches.

2° *Résultats.*

Les dosages de phloridzine ont porté sur 45 extraits tégumentaires de graines de Pommier des variétés Reinette du Mans, Reinette de Caux et Stayman Winesap ayant subi des traitements différents. D'une façon générale, 100 mg d'enveloppes sèches renferment 3 000 à 4 000 µg de phloridzine, soit 3 à 4 % du poids de matière sèche.

Les enveloppes séminales de Pommier des variétés étudiées sont donc extrêmement riches en phloridzine. Ce résultat constitue un argument en faveur de notre hypothèse sur le mécanisme de l'inhibition tégumentaire de germination. L'oxydation totale des phénols tégumentaires doit en effet être très longue.

La technique utilisée pour doser la phloridzine a l'avantage d'être extrêmement simple et de ne pas nécessiter de manipulations qui risquent de détruire la phloridzine; celle-ci est en effet très labile (Müller et Robertson, 1933). Elle a, par contre, l'inconvénient suivant : le dosage est effectué sur un extrait total et risque d'être faussé par la présence des autres composés phénoliques. Une critique approfondie de notre technique nous permet d'affirmer qu'elle est parfaitement valable pour le matériel végétal utilisé.

3° *Critique de la technique.*

1° **Précision des mesures.** – Le dosage effectué sur 12 prélèvements de 100 mg (poids sec) d'enveloppes séminales de même origine — prélevées dans des pommes Reinette du Mans traitées pendant 180 jours à 12° C — prouve que ces enveloppes sont très homogènes quant à leur teneur en phloridzine et que le dosage est assez précis puisque les 12 résultats obtenus sont compris entre 2 720 µg et 2 860 µg. C'est pourquoi tous les dosages n'ont été faits qu'en double, les deux valeurs obtenues étant toujours très voisines.

2° **Incidence de la présence d'autres composés phénoliques sur le dosage de la phloridzine.** — L'étude chromatographique nous a montré qu'en plus de la phloridzine les enveloppes séminales renferment essentiellement deux acides phénoliques : l'acide chlorogénique et l'acide *para*-coumaryl-quinique, le premier étant nettement plus abondant que le second. Nous avons donc étudié principalement l'influence de la présence d'acide chlorogénique dans l'extrait tégumentaire sur le dosage de la phloridzine. Cette étude a été faite soit en analysant l'évolution

du spectre d'une solution de phloridzine par addition de quantités connues d'acide chlorogénique, soit en détruisant sélectivement l'acide chlorogénique d'un mélange de phloridzine et d'acide chlorogénique.

Tableau XIV. — Diverses solutions éthanoliques utilisées pour étudier l'influence de la présence d'acide chlorogénique sur le spectre d'une solution de phloridzine

Solutions	Teneur en phloridzine et acide chlorogénique pour 1 ml de solution	
	Phloridzine (1) (µg)	Acide chlorogénique (µg)
1.	30	0
2.	30	2,5
3.	30	5
4.	30	10
5.	30	20

(1) 30 µg/ml correspond à peu près à la concentration en phloridzine de nos extraits tégumentaires.

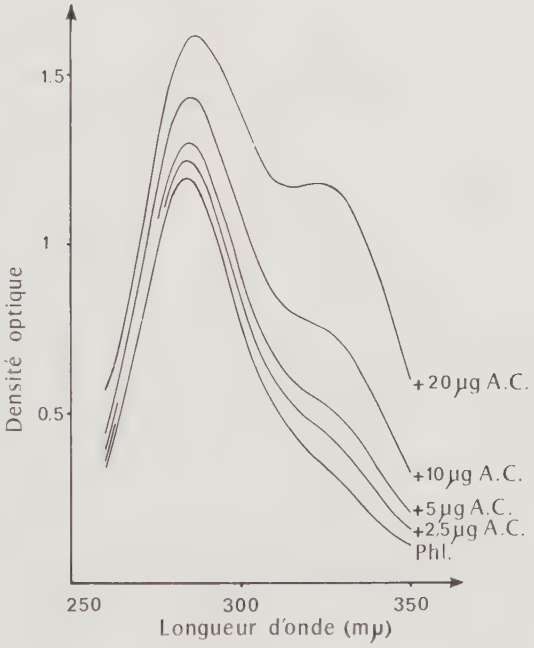

Fig. 29.

Evolution du spectre d'une solution éthanolique de phloridzine à 30 µg/ml (Phl) *par addition progressive d'acide chlorogénique* (A.C.).

a) Evolution du spectre de la phloridzine par addition d'acide chlorogénique. — Diverses solutions alcooliques (éthanol à 80 %) sont préparées (tableau XIV). L'addition d'acide chlorogénique à la solution de phloridzine fait apparaître les faits suivants (fig. 29).

— Elle relève la densité optique à 284 mµ, mais 5 µg/ml d'acide

chlorogénique ne causent qu'une erreur de 10 % sur le dosage de la phloridzine.

— Elle fait apparaître une ondulation sur le spectre à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de l'acide chlorogénique (328 mμ).

— Elle provoque un léger déplacement du maximum d'absorption (284 mμ pour la phloridzine seule) vers les plus grandes longueurs d'onde.

L'ampleur de l'ondulation du spectre à 328 mμ nous renseigne sur la teneur de la solution en acide chlorogénique. Or, l'analyse du spectre des 45 extraits d'enveloppes séminales sur lesquels porte le dosage de la phloridzine montre que cette ondulation est toujours très peu prononcée; par rapport à la phloridzine, ces extraits sont donc très peu riches en acide chlorogénique. La valeur du rapport de la densité optique à 328 mμ à la densité optique à 284 mμ nous apporte d'ailleurs une précision (tableau XV). Pour une solution de phloridzine pure, ce

Tableau XV. — Valeurs du rapport de la densité optique a 328 mμ a la densité optique a 284 mμ

Solution de phloridzine pure		Solution de phloridzine a 30 μg/ml + acide chlorogénique		45 extraits
Concentration (μg/ml)	D. O. à 328 mμ / D. O. à 284 mμ	Concentration en acide chlorogénique (μg/ml)	D. O. à 328 mμ / D. O. à 284 mμ	D. O. à 328 mμ / D. O. à 284 mμ
10	0,276	2,5	0,323	
20	0,262	5	0,400	Compris entre
30	0,266	10	0,517	0,282 et 0,393.
		20	0,723	

rapport est évidemment indépendant de la concentration. Par contre, il croît rapidement quand la teneur de la solution en acide chlorogénique augmente. Il est en effet de 0,400 lorsque la solution de phloridzine à 30 μg/ml renferme 5 μg/ml d'acide chlorogénique alors qu'il est voisin de 0,270 pour une solution de phloridzine pure. Dans le cas des 45 extraits tégumentaires étudiés, ce rapport est toujours inférieur à 0,400 et souvent très inférieur à cette valeur. Autrement dit, l'erreur commise sur le dosage de la phloridzine des extraits tégumentaires, du fait de la présence d'acide chlorogénique dans ces extraits, est toujours inférieure à 10 % et souvent très inférieure à 10 %.

b) Destruction sélective de l'acide chlorogénique. — Grâce à une technique mise au point dans notre laboratoire par Delaporte (1967), pour doser l'acide ascorbique d'extraits végétaux, nous avons pu oxyder sélectivement l'acide chlorogénique en mélange avec de la phloridzine en solution éthanolique à 80 %. Une lampe « basse tension » à vapeur de mercure type P. C. Q. à immersion, qui donne un

rayonnement ultra-violet dont 90 % de l'émission se situe à 254 mμ, plonge dans la solution alcoolique. En présence d'oxygène (ou d'air) il se forme, notamment, de l'ozone en surface et de l'eau oxygénée en solution qui sont capables d'oxyder préférentiellement les composés les plus labiles dans une zone de pH déterminée. Dans nos essais, le pH, mesuré au pH-mètre type METRHOM, varie d'environ 7 au départ à 4 en fin de mesure. Les spectres des solutions, tracés après des temps variables d'irradiation à l'air, permettent de suivre la dégradation

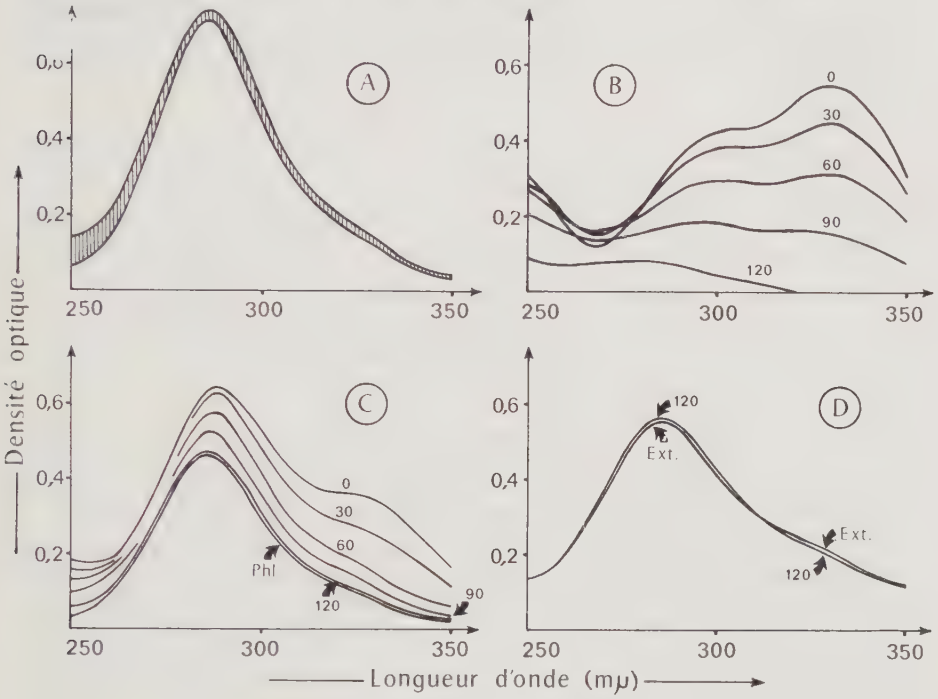

FIG. 30. — *Dégradation sélective de l'acide chlorogénique en solution éthanolique, par irradiation ultra-violette.*

Graphique A : non destruction de la phloridzine (le graphique représente l'enveloppe de 6 spectres tracés au cours de 3 heures d'irradiation).

Graphique B : destruction progressive de l'acide chlorogénique (0, 30, 60, 90, 120 : temps d'irradiation, en minutes).

Graphique C : destruction sélective de l'acide chlorogénique en mélange avec de la phloridzine. (*Phl.* : phloridzine pure; 0 : même solution additionnée d'acide chlorogénique; 30, 60, 90, 120 : temps d'irradiation du mélange, en minutes).

Graphique D : destruction de l'acide chlorogénique d'un extrait tégumentaire. (*Ext.* : extrait tégumentaire; 120 : temps d'irradiation, en minutes, de cet extrait).

oxydative de ces solutions. Notre expérimentation a porté sur des solutions éthanoliques à 80 % de phloridzine, d'acide chlorogénique, du mélange de ces deux corps et sur des extraits tégumentaires, en utilisant un spectrophomètre LERES type DMS.

— *Solutions de phloridzine.* — Dans nos conditions expérimentales la phloridzine n'est pas dégradée après 3 heures d'irradiation (fig. 30 *A*).

— *Solutions d'acide chlorogénique.* — L'acide chlorogénique est progressivement dégradé; après 2 heures d'irradiation il est totalement oxydé (fig. 30 *B*).

— *Solutions de phloridzine enrichies en acide chlorogénique* (fig. 30 *C*). — Le spectre de la solution de phloridzine étant tracé, on ajoute à cette solution quelques gouttes d'une solution d'acide chlorogénique. Après avoir tracé le spectre du mélange, celui-ci est irradié. L'acide chlorogénique seul est progressivement détruit; après 2 heures d'irradiation, nous retrouvons le spectre de la solution de phloridzine très légèrement décalé par suite de la concentration de la solution au cours de l'irradiation.

— *Extraits tégumentaires* (fig. 30 *D*). — L'irradiation d'un extrait tégumentaire fait disparaître la légère ondulation du spectre correspondant au maximum d'absorption de l'acide chlorogénique, sans modifier le reste du spectre et, en particulier, le maximum d'absorption à 284 mμ (compte tenu de la concentration de la solution au cours des manipulations). La teneur de l'extrait en acide chlorogénique est donc très faible par rapport à sa teneur en phloridzine, et cet acide chlorogénique ne gêne pas le dosage de la phloridzine effectué sur l'extrait total à 284 mμ.

L'oxydation sélective de l'acide chlorogénique en milieu alcoolique réside sans doute dans le fait que la liaison éthylénique de cet acide lui confère une labilité supérieure à celle de la phloridzine. Dans les mêmes conditions expérimentales, l'acide *para*-coumarique et donc sans doute l'acide *para*-coumaryl-quinique (1), dont la molécule possède aussi une liaison éthylénique, est également dégradé. Comme la seule modification du spectre d'un extrait tégumentaire enregistrée après irradiation est la disparition de l'ondulation due à la présence d'acide chlorogénique, l'acide *para*-coumaryl-quinique de l'extrait ne doit pas non plus fausser le dosage de la phloridzine.

Le potentiel d'oxydation de la phloridzine ne semble pas être atteint en milieu alcoolique aux pH où nous travaillons, de sorte que ce composé n'est pas oxydé. En milieu aqueux, par contre, la phloridzine est dégradée comme l'acide chlorogénique et l'acide *para*-coumarique.

3° **Dosage des phénols totaux.** — Nous n'avons pas accordé un intérêt considérable au dosage des phénols totaux de nos extraits tégumentaires parce qu'il ne semble pas exister de méthode de dosage rigoureuse. Nous avons choisi la méthode colorimétrique de Folin et Denis et avons suivi la technique décrite par Swain et Hillis (1959), le réactif de Folin et Denis étant préparé comme il est indiqué dans

(1) Macheix, dans notre laboratoire, a montré que l'acide *para*-coumaryl-quinique extrait des pommes est effectivement dégradé en milieu éthanolique par irradiation ultra-violette (travaux non publiés).

« Methods of Analysis — A. O. A. C. » (1). Les mesures sont faites au photocolorimètre LUMETRON modèle 402 E muni d'un filtre 734 mμ.

Dans les 45 extraits dont nous avons dosé la phloridzine, nous avons trouvé, pour 100 mg d'enveloppes séminales sèches, l'équivalent en phénols totaux de 4 000 à 6 000 μg de phloridzine, soit 4 à 6 % du poids de matière sèche. Mais cela ne veut pas dire que les enveloppes séminales renferment réellement 4 à 6 % de phénols totaux car, en plus de la non-spécificité de la méthode, tous les phénols ne donnent pas la même intensité de coloration à concentration égale. En particulier, l'acide chlorogénique donne une coloration beaucoup plus intense que

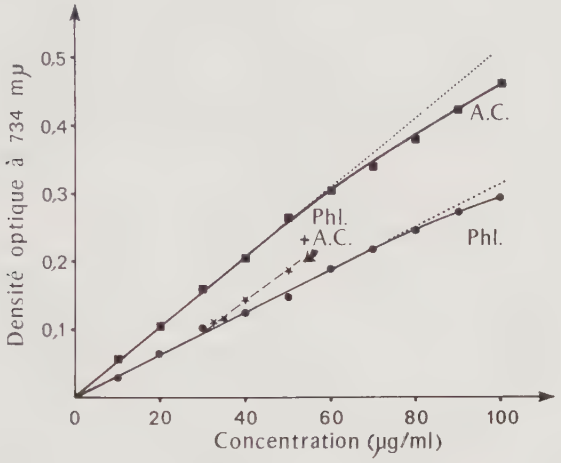

FIG. 31. — *Variation de l'intensité de la coloration donnée par le réactif de* FOLIN *et* DENIS, *en fonction de la concentration de diverses solutions éthanoliques.*

Phl. : solution de phloridzine.

A. C. : solution d'acide chlorogénique.

Phl. + *A. C.* : solution de phloridzine à 30 μg/ml enrichie en acide chlorogénique.

la phloridzine (fig. 31). Par conséquent, les enveloppes séminales de Pommier renferment certainement moins de 4 à 6 % de leur poids sec de phénols et la phloridzine est très nettement le composé phénolique le plus abondant.

4° *Variation de la teneur en phloridzine des enveloppes séminales au cours de la post-maturation.*

Les résultats obtenus avec les graines de trois variétés de Pommier prétraitées dans diverses conditions, sont consignés dans le tableau XVI. Le seul fait remarquable est la diminution considérable de la teneur en

(1) Official and Tentative Methods of Analysis (1945). Association of Official Agricultural Chemists éd., Washington, 6e éd., p. 202.

phloridzine des enveloppes des graines de Pommier Reinette de Caux traitées par le froid en dehors des fruits; or dans ces conditions l'inhibition tégumentaire n'existe pas. Ce fait semble se retrouver dans la variété Reinette du Mans mais pas dans la variété Stayman Winesap.

Tableau XVI

Teneur en phloridzine des enveloppes séminales de Pommier

Durée du traitement (jours)	µg de phloridzine dans 100 mg d'enveloppes (matière sèche)			
	Post-maturation des graines isolées à 4° C	Post-maturation au sein des fruits à		
		0° C	4° C	12° C
	Reinette du Mans.			
0 (récolte)	3 210	3 210		3 210
14		3 200		3 300
36		2 930		
40	3 030			3 030
80	2 560	3 110		
88				3 110
141		3 010		3 180
155		2 860		
180				3 020
	Reinette de Caux.			
0 (récolte)	3 800	3 800	3 800	3 800
18		3 710		3 960
40	2 600	3 560	3 800	
45				3 200
82		3 760	3 710	
85	1 560			3 560
93		4 200	3 500	3 300
145		4 160	3 000	3 460
207		3 500	3 300	
	Stayman Winesap.			
0 (récolte)	3 630	3 630		3 630
14		3 560		4 300
36		3 460		
40	3 480			4 000
80	3 660	3 480		
88				3 795
142		3 930		4 110
230				3 480
240		3 500		

Lorsque les graines subissent leur post-maturation au sein des fruits, nous n'avons pu mettre en évidence aucune relation nette entre l'intensité de l'inhibition tégumentaire et la teneur des enveloppes en phloridzine. Il ne semble donc pas que l'inhibition tégumentaire soit étroitement liée à la richesse des enveloppes en ce composé phénolique.

II. — INFLUENCE DE DIVERS TRAITEMENTS SUR LA GERMINATION DES GRAINES DE POMMIER

Si notre hypothèse est exacte, nous devons pouvoir favoriser la germination des graines inhibées en augmentant la quantité d'oxygène qui atteint l'embryon. Pour cela, plusieurs possibilités se sont offertes :

— blesser les enveloppes pour qu'elles créent une barrière moins efficace au passage d'oxygène;

— enrichir l'atmosphère en oxygène de façon à créer un gradient d'oxygène plus important au sein des enveloppes;

— agir sur le pH du milieu de culture; les composés phénoliques sont en effet plus oxydables à pH plus élevé;

— éliminer le plus possible de phénols tégumentaires avant l'ensemencement des graines.

1° Influence de la scarification.

A l'aide de graines prélevées dans des pommes Stayman Winesap traitées pendant 4 mois à 0° C ou 4° C, nous avons étudié l'influence, sur leur germination à 22° C, de scarifications mécaniques plus ou moins larges et diversement localisées. Ces graines ne sont pas dormantes et leur germination est partiellement inhibée à la température de 22° C.

1° **Technique d'étude.** — Les lots suivants ont été préparés (fig. 32) :

— *Lot 1 :* graines intactes.

— *Lot 2 :* enveloppes blessées par un coup d'aiguille; lors de l'ensemencement, la blessure est tournée vers le haut.

— *Lot 3 :* enveloppes blessées latéralement par un coup de lame de rasoir; la blessure est orientée vers le haut.

— *Lot 4 :* un lambeau d'enveloppes est enlevé tangentiellement, de

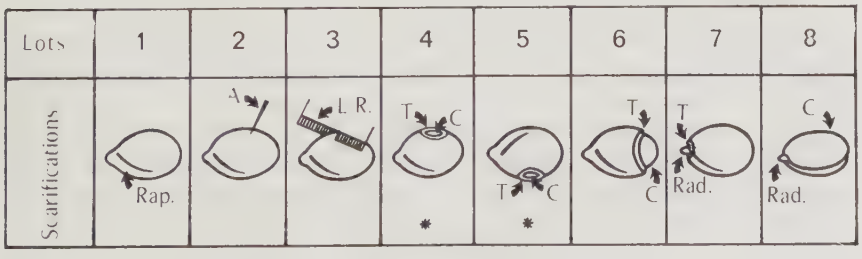

FIG. 32. — *Diverses scarifications étudiées.*

A : aiguille; *C* : cotylédon; *L. R.* : lame de rasoir; *Rad.* : radicule; *Rap.* : raphé; *T* : tégument.

* La surface de tégument enlevée varie selon les essais.

façon à mettre à nu une certaine surface du cotylédon; la blessure est tournée vers le haut.

— *Lot 5 :* même chose, mais la blessure est orientée vers le bas, au contact du coton humide.

— *Lot 6 :* l'extrémité opposée à la radicule (pôle cotylédonaire) a été dénudée.

— *Lot 7 :* radicule dégagée des enveloppes.

— *Lot 8 :* embryons dénudés.

Aucune condition particulière d'aseptie n'étant prise, des moisissures peuvent se développer au niveau de la blessure, mais très tardivement, et seulement quand les graines germent difficilement.

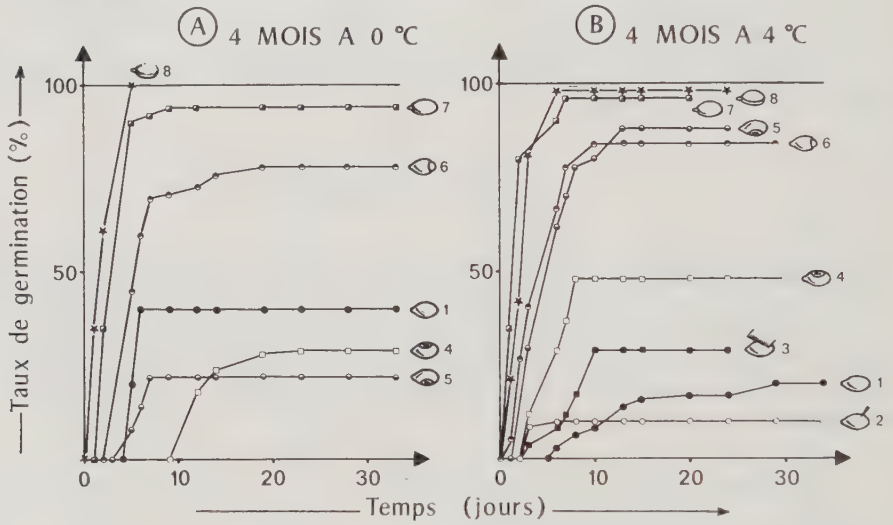

Fig. 33. — *Influence de diverses scarifications sur la germination, à 22° C, des graines de Pommier* (var. *Stayman Winesap*) *prétraitées au sein des fruits pendant 4 mois à 0 et 4° C.*

Pour la signification des essais, se reporter à la figure 32.

2° **Résultats** (fig. 33). — *a)* Les graines intactes germent mal à 22° C, surtout lorsqu'elles proviennent de fruits traités pendant 4 mois à 4° C. Leur vitesse de germination est lente et leur capacité de germination est faible.

b) Les scarifications pratiquées sur le flanc de la graine (lots 2, 3, 4 et 5) favorisent d'autant plus la germination qu'elles sont plus larges. Un coup d'aiguille est inefficace. Un coup de lame de rasoir a également peu d'effet. Les lots 4 et 5 ne germent pas mieux que les témoins non blessés si le lambeau d'enveloppes enlevé est tel que 1 à 2 mm² du cotylédon ont été dégagés (fig. 33 *A*); dans ce cas, on n'enregistre d'ailleurs pas de différence significative entre ces deux lots. La germination est, par contre, améliorée si la surface du cotylédon mise à nu est de

3 à 4 mm² (lot 4, fig. 33 *B*) et surtout de 5 à 6 mm² (lot 5, fig. 33 *B*); dans ce dernier cas, d'ailleurs, la blessure est plus proche de la radicule.

c) L'ablation des enveloppes au pôle cotylédonaire (large scarification, lot 6) favorise nettement la germination, mais beaucoup moins que la mise à nu de la radicule (lot 7). Dans ce dernier cas, les graines germent pratiquement comme les embryons dénudés, avec la même vitesse et dans les mêmes proportions.

d) La vitesse et la capacité de germination sont d'autant plus grandes que la blessure est plus ample et plus proche de la radicule.

Remarque. — La germination des graines dont le pôle cotylédonaire a été dénudé (lot 6) est assez particulière. Très souvent la radicule ne perce pas les enveloppes. Les cotylédons sont rejetés à l'extérieur de

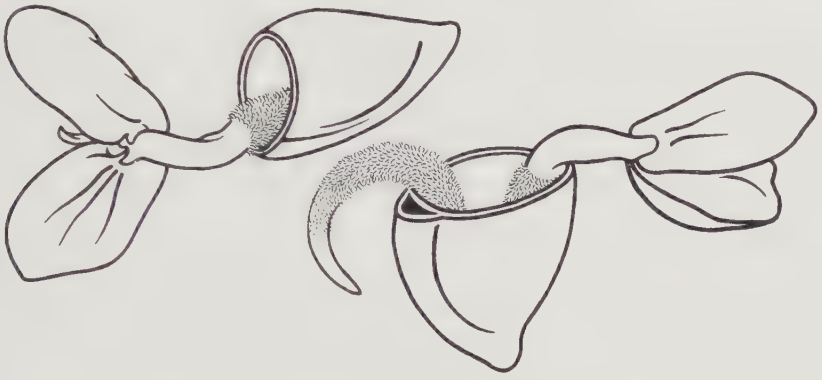

Fig. 34. — *Germination particulière des graines dont le pôle cotylédonaire a été dénudé.*

la blessure sous la poussée de la radicule. La racine se recourbe et sort également par la blessure (fig. 34). Les enveloppes offrent donc une résistance mécanique importante à la saillie de la radicule. Cette résistance tient à l'enveloppe interne et non pas à l'enveloppe externe qui présente une large perforation au niveau de la radicule.

3° **Interprétation des résultats.** — *Seules les larges scarifications mécaniques des graines de Pommier ont un effet notable sur la germination.* Cela n'est pas surprenant, car l'eau d'imbibition des enveloppes bouche les petites blessures. Or, l'oxygène atteint l'embryon par dissolution dans l'eau d'imbibition. Il doit donc traverser l'eau qui comble les petites blessures sensiblement comme si les enveloppes étaient intactes.

La scarification est surtout efficace si elle est pratiquée au voisinage de la radicule. M. Martin (1964) fait la même constatation chez les graines de *Phacelia tanacetifolia*. Lorsque la radicule est dégagée des enveloppes, la graine se comporte comme si l'embryon était entièrement dénudé. Cela laisse supposer que c'est la radicule qui a le plus

besoin d'oxygène et que ce gaz diffuse difficilement d'un point éloigné de la graine vers la radicule. Visser (1956 *b*) obtient des résultats comparables aux nôtres avec les graines d'autres variétés de Pommier. De son côté, Black (1956) a montré que la scarification permet la germination de 50 % des graines de Bouleau à l'obscurité, alors que les graines intactes ne germent pas du tout. Ce traitement favoriserait l'entrée d'oxygène tout en maintenant l'inhibiteur tégumentaire. Pour cet auteur, l'oxygène est normalement utilisé à l'oxydation enzymatique de l'inhibiteur. Cette idée rejoint notre propre conception du phénomène dans le cas des graines de Pommier.

2° Influence de la teneur de l'atmosphère en oxygène.

La quantité d'oxygène nécessaire à la germination des semences varie considérablement d'une espèce à l'autre (Carr, 1961), mais la germination est souvent favorisée par l'enrichissement de l'atmosphère en oxygène. C'est d'ailleurs cette constatation qui amène le plus souvent les auteurs à dire que l'absence de germination dans l'air est due à une perméabilité insuffisante des enveloppes à l'oxygène.

1° **Technique d'étude.** — Nos propres essais ont porté sur des graines et des embryons de Pommier prélevés dans des fruits traités 120 jours à 4° C (variété Reinette du Mans) ou à 0° C (variété Stayman Winesap). La germination a lieu à la lumière à 10° C et 22° C, en flacons d'Erlenmeyer balayés par des mélanges d'azote et d'oxygène renfermant 0, 3, 10, 21, 50 ou 100 % d'oxygène.

2° **Résultats** (fig. 35). — Les embryons, et par suite les graines, sont incapables de germer en l'absence d'oxygène.

— Les embryons germent toujours en plus grand nombre que les graines dont ils proviennent. Nous retrouvons là le rôle inhibiteur des enveloppes, plus intense à 22° C qu'à 10° C.

— La sensibilité des graines et des embryons à l'oxygène est plus accusée à 22° C qu'à 10° C et dans la variété Reinette du Mans que dans la variété Stayman Winesap.

D'une façon générale, les embryons germent bien en présence de 3 à 21 % d'oxygène. Dans la variété Reinette du Mans, la germination des embryons exige cependant plus d'oxygène à 22° C qu'à 10° C. La capacité de germination des embryons diminue en présence de 50 % d'oxygène et surtout dans l'oxygène pur, sauf dans le cas des embryons de la variété Stayman Winesap ensemencés à 10° C. Les fortes tensions d'oxygène sont donc souvent nocives pour les embryons.

La germination des graines exige généralement de plus fortes tensions d'oxygène que celle des embryons. Les atmosphères renfermant 50 % d'oxygène n'améliorent pas la germination des graines, mais elles

ne réduisent pas leur capacité de germination comme dans le cas des embryons. Les graines sont incapables de germer à 22° C dans de l'oxygène pur.

Les vitesses de germination sont toujours plus faibles pour les graines que pour les embryons, à 10° C qu'à 22° C et dans la variété Reinette du Mans que dans la variété Stayman Winesap. Pour les mêmes graines ou les mêmes embryons placés dans les mêmes conditions thermiques, elles varient comme les capacités de germination.

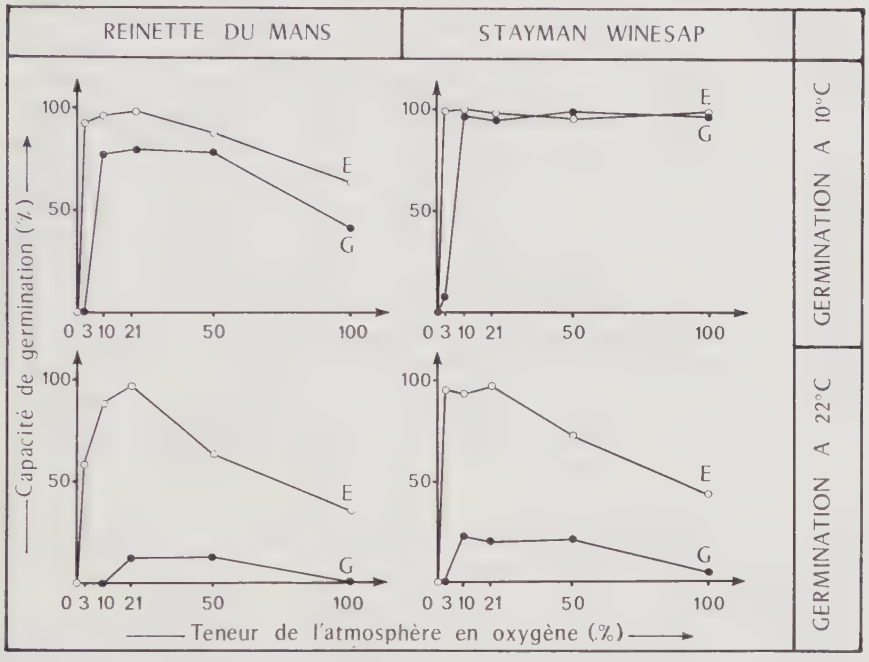

FIG. 35. — *Influence de la teneur de l'atmosphère en oxygène sur la capacité de germination, à 10° C et 22° C, des graines* (G) *et des embryons* (E) *prétraités au sein des fruits.*

Reinette du Mans : fruits 120 jours à 4° C.
Stayman Winesap : fruits 120 jours à 0° C.

3° **Interprétation des résultats.** — *a)* CAS DES FAIBLES TENSIONS D'OXYGÈNE. — Les graines ne germent pas dans 3 % d'oxygène; leurs embryons germent généralement très bien dans les mêmes conditions. Les enveloppes séminales semblent donc être peu perméables à l'oxygène. BLACK et WAREING (1959) observent aussi que, bien que l'effet inhibiteur des téguments des graines de *Betula* soit partiellement dû à la réduction de l'apport d'oxygène à l'embryon, les atmosphères pauvres en oxygène n'empêchent pas la germination des embryons isolés.

Notons que dans 3 % d'oxygène les plantules de Pommier obtenues sont très peu vertes et très allongées; elles ont un aspect étiolé bien

que la germination ait lieu à la lumière. En outre, les embryons des graines qui ne germent pas acquièrent progressivement une dormance secondaire.

b) Cas des fortes tensions d'oxygène. — *En aucun cas nous n'avons pu augmenter la capacité de germination des graines en enrichissant l'atmosphère en oxygène.* Divers auteurs ont fait cette même constatation chez d'autres semences (Taylor, 1942; Brown, 1942 et 1943; Larmour, Sallans et Graig, 1944).

Le fait que les atmosphères renfermant 50 % d'oxygène sont plus nocives pour les embryons que pour les graines peut encore s'expliquer par la réduction par les enveloppes de l'apport d'oxygène à l'embryon. Mais on comprend mal pourquoi les graines ne germent pas dans l'oxygène pur à 22° C. En outre, les tropismes des plantules obtenues dans l'oxygène pur sont souvent inversés; la racine croît vers le haut et l'hypocotyle reste couché sur le milieu de culture. L'effet nuisible de l'oxygène sur les semences d'Avoine, de Blé, et de Haricot est attribué par Barton (1950) à une absorption excessive d'eau. Guyot et Dupuy (1962) pensent que cet effet nocif de l'oxygène doit être d'ordre plus général, métabolique. Les radis se développent d'ailleurs moins bien dans des atmosphères riches en oxygène (Molliard, 1935).

3° Influence du pH du milieu de culture.

Si notre hypothèse sur le mécanisme de l'inhibition tégumentaire est exacte, les phénols étant moins oxydables à pH bas, la germination doit être favorisée par l'abaissement du pH du milieu de culture.

1° **Technique d'étude.** — Les graines sont prélevées dans des fruits ayant séjourné 120 jours à 0° C (variété Reinette du Mans) ou à 4° C (variété Stayman Winesap) et ensemencées sur du coton imbibé de tampon phosphate monopotassique-phosphate disodique de Sörensen. Le pH des milieux de culture varie de 4,5 à 9,0 et les essais de germination sont conduits à 22° C. Les graines utilisées ne sont pas dormantes, mais elles sont partiellement inhibées lorsqu'elles sont mises à germer sur de l'eau distillée à cette température.

2° **Résultats** (tableau XVII). — Les résultats obtenus sont bien ceux que nous avions prévus. Les embryons sont insensibles au pH. A pH égal ou inférieur à 6,0 l'inhibition tégumentaire est moins intense qu'à pH supérieur à 6,0. L'eau distillée utilisée pour les essais de germination ayant toujours un pH voisin de 5, les graines sont normalement placées dans les conditions les moins défavorables à leur germination. Un fait analogue se retrouve par exemple chez les semences de *Triglochin maritimum* dont la germination dans l'eau douce est améliorée par un prétrempage dans un milieu à pH peu élevé (Binet, 1961).

Tableau XVII. — Influence du pH du milieu de culture sur les taux de germination des graines, relevés après 15 jours au germoir a 22° C.

Reinette du Mans : graines issues de fruits traités 120 jours à 0° C.
Stayman Winesap : graines issues de fruits traités 120 jours à 4° C.

pH du milieu de culture	Taux de germination (%)	
	Reinette du Mans	Stayman Winesap
4,5	26	18
5,0	21	19
5,5	19	16
6,0	24	20
6,5	9	9
7,0	11	8
7,5	9	10
8,0	7	8
8,5	2	3
9,0	6	5

Le « quotient respiratoire » des enveloppes des mêmes graines, mesuré à 25° C, est de l'ordre de 0,35 à pH 7 et 9 et compris entre 0,4 et 0,5 à pH 5. Ce résultat peut s'expliquer par une oxydation plus intense ou plus complète des phénols tégumentaires aux pH élevés et confirme les résultats précédents.

4° *Influence de l'élimination des phénols tégumentaires.*

Si les phénols tégumentaires interviennent effectivement pour inhiber la germination des graines de Pommier, on peut espérer favoriser la germination :

— soit en les éliminant en partie par lavage des graines à l'alcool;
— soit en les oxydant en place par l'eau oxygénée.

1° **Technique expérimentale.** Des essais préliminaires nous ayant montré qu'un traitement brutal des graines par l'alcool absolu lèse les embryons, nous avons fait subir aux graines des trempages successifs de 5 minutes dans l'éthanol à 50 %, séparés par des lavages à l'eau courante de 15 à 20 minutes. Ce traitement n'est pas nocif pour les embryons si le temps total de séjour des graines dans l'éthanol aqueux n'excède pas 30 minutes.

Les traitements par l'eau oxygénée sont effectués par trempage continu des graines dans l'eau oxygénée à 10 ou 20 volumes suivi d'un rinçage d'une heure à l'eau courante. De tels traitements n'ont pas d'effet nocif sur les embryons.

Des graines n'ayant subi aucun traitement et des graines lavées pendant 4 heures à l'eau courante servent de témoins.

Après ces divers traitements, les graines et leurs embryons sont immédiatement mis à germer sur de l'eau distillée à 18° C. Les graines utilisées sont normalement inhibées à cette température; elles sont prélevées dans des fruits des variétés Reinette du Mans et Reinette de Caux ayant séjourné 140 jours à 4° C.

La mesure, à l'aide de l'appareil de Warburg, de l'absorption d'oxygène par les enveloppes des graines ainsi traitées, permet d'interpréter les résultats des essais de germination.

2° **Résultats** (tableau XVIII). — Le traitement des graines par l'éthanol et l'eau oxygénée augmente leur capacité de germination alors que leur lavage par l'eau courante est sans effet. Les embryons nus germent toujours très bien.

Tableau XVIII. — Influence de traitements par l'eau oxygénée et l'éthanol sur la capacité de germination, a 18° C, de graines de Pommier prélevées dans des fruits traités 140 jours a 4° C.

Temps de traitement (mn)	Capacité de germination a 18° C (%)			
	Reinette du Mans	Reinette de Caux		
	H_2O_2 à 10 vol.	Ethanol à 50 %	H_2O_2 à 20 vol.	Eau
0	3	9	9	9
5		8		
10		14		
15	7		14	
20		15		
30	19	17	16	
45			17	
60	23		18	
120			17	
240				8

3° **Interprétation des résultats.** - Les enveloppes séminales des graines étudiées absorbent d'autant moins d'oxygène qu'elles ont subi un traitement plus prolongé par l'éthanol ou l'eau oxygénée (fig. 36). *Les graines les moins inhibées sont donc celles dont les enveloppes fixent le moins d'oxygène.*

La réduction de la fixation d'oxygène par les enveloppes séminales ainsi traitées s'explique par l'oxydation par l'eau oxygénée ou par l'extraction par l'alcool d'une partie des phénols tégumentaires. Le spectre de l'alcool ayant servi à traiter les graines prouve qu'effectivement des phénols ont été extraits. Les enveloppes séminales renfermant moins de phénols oxydables sont moins inhibitrices. C'est pour cette raison que nous n'avons jamais stérilisé les graines de Pommier.

Nous pouvons comparer à ces résultats le fait que les semences de *Larrea divaricata* (Muller, 1946) et de *Fagonia bruguieri* (Killian et

Lemée, 1956) ne germent bien que si elles ont été lavées longtemps à l'eau courante; ce traitement éliminerait des inhibiteurs de germination.

L'ensemble des résultats qui précèdent semble apporter de bons arguments en faveur de notre hypothèse. Celle-ci permet, en outre, d'interpréter correctement l'influence de la température et des conditions de post-maturation sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire.

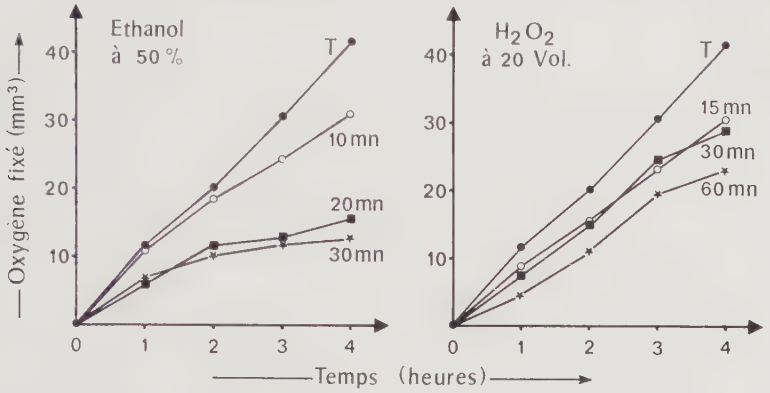

Fig. 36. — *Influence de traitements plus ou moins prolongés des graines par l'éthanol et l'eau oxygénée, sur la capacité de fixation d'oxygène par 100 mg* (matière fraîche) *de leurs enveloppes* (var. *Reinette de Caux* : fruits 140 jours à 4° C).

Mesure faite à 25° C.
T : témoins non traités.

III. — INTERPRÉTATION DE L'INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE DE GERMINATION ET DES CONDITIONS DE POST-MATURATION SUR L'INTENSITÉ DE L'INHIBITION TÉGUMENTAIRE

1° Résultats obtenus à l'aide de l'appareil de Warburg.

Les mesures de l'absorption d'oxygène par des enveloppes séminales de Pommier Reinette du Mans, faites à diverses températures avec des graines ayant subi leur post-maturation au sein des fruits à 4° C et 12° C, ont fourni les résultats suivants (fig. 37).

— L'absorption d'oxygène par les mêmes enveloppes séminales augmente avec la température de la mesure.

— Pour une même température de mesure, la quantité d'oxygène fixée pendant le même temps croît avec la durée de post-maturation.

— Les oxydations tégumentaires augmentent plus avec la durée de post-maturation lorsque celle-ci a lieu à 12° C que lorsqu'elle se produit à 4° C.

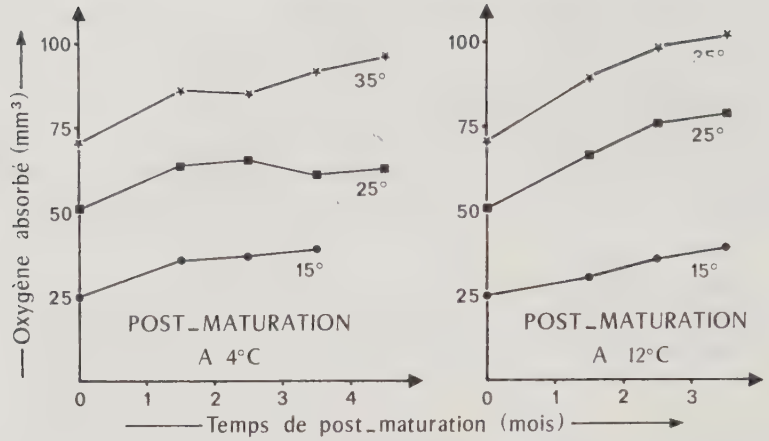

FIG. 37. — *Variation, en fonction du temps de traitement des fruits* Reinette du Mans *à 4° C et 12° C, de la quantité d'oxygène fixée en 5 heures par 100 mg d'enveloppes séminales fraîches.*

Mesures faites à 15, 25 et 35° C.

2° Signification des résultats.

Ces résultats permettent de comprendre très facilement comment la température de germination, la température et la durée de post-maturation des graines au sein des fruits peuvent agir sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire. Pour cela, souvenons-nous que l'oxygène extérieur atteint l'embryon par dissolution dans l'eau d'imbibition des enveloppes et que la solubilité de l'oxygène dans l'eau diminue lorsque la température augmente.

1° **Influence de la température de germination.** — Lorsque la température s'élève, l'intensité des oxydations tégumentaires augmente alors que la solubilité de l'oxygène dans les enveloppes imbibées diminue. Ces deux facteurs jouent dans le même sens pour limiter l'apport d'oxygène à l'embryon. L'intensité de l'inhibition tégumentaire augmente donc avec la température de germination.

2° **Influence des conditions de post-maturation.** — Pour une même température de germination, les oxydations tégumentaires augmentent avec la durée et la température de post-maturation des graines. La germination des graines est donc d'autant plus inhibée à une température donnée que leur post-maturation a été plus longue et effectuée à température plus élevée.

3° **Influence conjuguée de la température de germination et des conditions de post-maturation.** — L'influence conjuguée de la température de germination et des conditions de post-maturation, sur l'intensité des oxydations tégumentaires, entraîne un déplacement de la température

maximale permettant la germination des graines vers les basses températures quand la post-maturation est plus prolongée ou effectuée à température plus élevée. Un schéma théorique nous permet de comprendre comment (fig. 38). La courbe représentant la variation de la quantité d'oxygène capable de se dissoudre dans les enveloppes séminales en fonction de la température, est une courbe théoriquement descendante. Même si cette courbe est modifiée du fait de la fixation d'une partie de l'oxygène dissous par les phénols tégumentaires — ce qui peut provoquer un appel d'oxygène extérieur — cela ne change rien au présent phénomène. Les résultats obtenus à l'aide de l'appareil de Warburg montrent que la courbe représentant la variation de la capacité de fixation d'oxygène par les enveloppes séminales en fonction de la température est du type de la courbe 1. Une graine ne peut germer

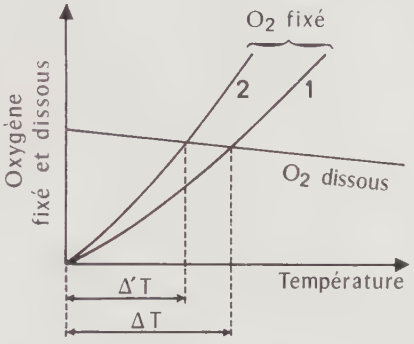

Fig. 38.

Schéma explicatif de l'influence de la température de germination et des conditions de post-maturation sur la germination des graines de Pommier (voir texte).

que si la quantité d'oxygène capable de se dissoudre dans les enveloppes séminales est supérieure à celle que peuvent fixer les phénols tégumentaires. Cette graine ne germe donc que dans l'intervalle de température ΔT. Supposons que la courbe 1 corresponde à des graines ayant subi une post-maturation de 2 mois à 4° C. Les résultats fournis par l'appareil de Warburg montrent que la courbe 1 devient la courbe 2 lorsque les mêmes graines ont subi une post-maturation plus prolongée à 4° C ou à température plus élevée. Les graines ne peuvent alors plus germer que dans l'intervalle de température Δ'T inférieur à ΔT et déplacé vers les basses températures.

3° Schéma d'interprétation.

La figure 39 schématise notre conception de l'influence de la température de germination sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire. Le même schéma peut concrétiser l'influence des conditions de post-maturation.

Cette interprétation permet peut-être d'expliquer pourquoi des graines de Pommier placées dans des conditions thermiques défavo-

rables à leur germination voient leurs embryons entrer en dormance secondaire. Il est en effet possible que ce soit une oxygénation insuffisante des embryons qui induise cet état. C'est d'ailleurs l'opinion de Thornton (1945). Nous trouverions là une explication à l'induction d'une dormance secondaire par les atmosphères appauvries en oxygène, qui n'est pas spécifique aux graines de Pommier (Davis, 1930 *a* et *b*; Thornton, 1934 et 1935). En fait, l'induction de la dormance exigerait un peu d'oxygène, mais très peu (Davis, 1930 *b*).

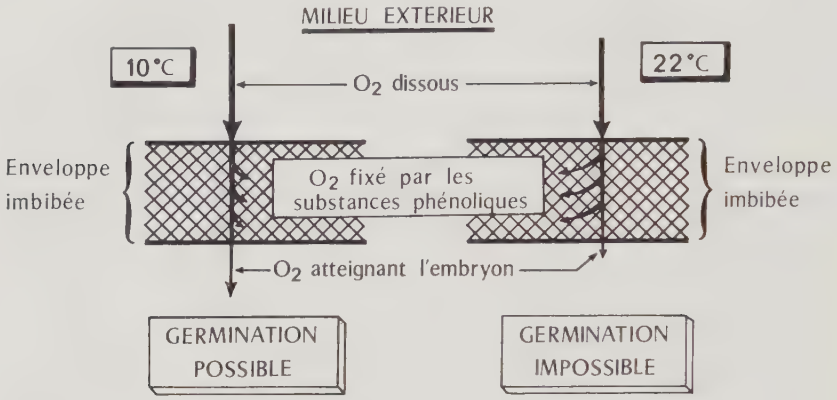

Fig. 39. — *Schéma d'interprétation de l'influence de la température sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire.*

Nous avons essayé, grâce à une technique appropriée, de vérifier le schéma d'interprétation proposé, en mesurant la quantité d'oxygène qui traverse une enveloppe séminale de Pommier imbibée.

IV. — MESURE DE LA QUANTITÉ D'OXYGÈNE QUI TRAVERSE UNE ENVELOPPE SÉMINALE IMBIBÉE

La technique dite de « l'effet Devaux » (Marcellin, 1960), que nous avions appliquée à la mesure de la perméabilité aux gaz des enveloppes séminales sèches (Côme, 1960 et 1961), n'est plus valable dans le cas des enveloppes imbibées. La recherche d'une nouvelle technique s'est donc imposée.

1° Technique d'étude.

1° **Principe de la méthode.** — La méthode consiste à fixer l'oxygène qui traverse l'enveloppe par un réactif permettant le dosage de cet oxygène. Le principe du dosage est inspiré de la technique de

WINKLER (1) : oxydation des ions manganeux divalents du chlorure de manganèse, en milieu alcalin, en ions de degrés d'oxydation supérieurs qui sont dosés, en milieu acide, par iodométrie.

2° **Dispositif expérimental.** — *a)* DESCRIPTION DE L'APPAREIL (fig. 40). — Les quatre pièces *A*, *B*, *C*, *D* se fixent les unes sur les autres grâce à des rodages coniques. Dans la chambre de réaction *A*, les réactifs peuvent être introduits sans admettre d'oxygène, grâce à l'entonnoir *ent.* La pièce *A* renferme, en outre, un petit barreau aimanté *(b. a.)*. La pièce *B*, rodée sur ses deux faces, est terminée en un tronc de cône à ouverture étroite sur laquelle sera fixée l'enveloppe séminale.

b) UTILISATION DE CET APPAREIL (fig. 41). — *Préparation de l'enveloppe séminale.* — Les mesures portent sur la moitié de l'enveloppe opposée au hile. Celle-ci *(env.)* est collée à l'aide de graisse Apiezon M *(gr.)* sur la pièce *B* et les 4 pièces de l'appareil sont assemblées.

— *Imbibition de l'enveloppe.* — A l'aide d'une ampoule *(Amp.)*, de l'eau distillée est introduite dans la pièce *B* en quantité suffisante pour recouvrir entièrement l'enveloppe *(niveau 1)*. Pendant que l'enveloppe s'imbibe de cette façon, la chambre de réaction *A* est balayée par un courant d'azote.

— *Balayage de la chambre de réaction.* — Il a pour but de chasser totalement l'oxygène de cette chambre. L'azote comprimé utilisé à cet effet renferme toujours un peu d'oxygène. Pour éliminer celui-ci, le courant gazeux traverse deux barboteurs successifs à plaque frittée qui contiennent l'absorbeur d'oxygène très efficace utilisé pour l'appareil de SCHOLANDER (1947). Un petit barboteur témoin renfermant du leucodérivé de bleu de méthylène permet de vérifier que l'azote ne contient plus du tout d'oxygène.

Pendant le balayage, effectué grâce aux tubulures t_A et t'_A, les robinets R_A et R'_A sont en *position 1* (fig. 40). Le balayage est maintenu pendant au moins une heure avec un débit d'azote de 0,5 litre/minute environ. L'air enfermé dans la voie du robinet r_A est également chassé par le courant d'azote. Les réactifs sont alors introduits.

— *Introduction des réactifs.* — Elle se fait par l'entonnoir *(ent.)*, en évitant toute pénétration d'oxygène dans l'appareil. Le balayage d'azote est maintenu pendant cette opération et du réactif occupe toujours la voie du robinet r_A. Le procédé est le suivant :

— introduction de 2 ml de soude 5N;

— lavage de l'entonnoir par de l'eau distillée puis un peu de la solution de chlorure de manganèse;

— introduction de 20 ml de solution de Cl_2 Mn, 4 H_2O à 20 mg/ml dans ClH 0,05N (cette solution de Cl_2 Mn est stable à l'air). Il se

(1) Voir CHARLOT (G.) (1966). *Les méthodes de la chimie analytique.* Analyse quantitative minérale. Masson et C^ie^, éd., Paris, p. 828.

forme, avec la soude, un abondant précipité de Mn $(OH)_2$. Le réactif est alors en place; le balayage d'azote est coupé par fermeture des robinets R_A et R'_A (*position 2*, fig. 40).

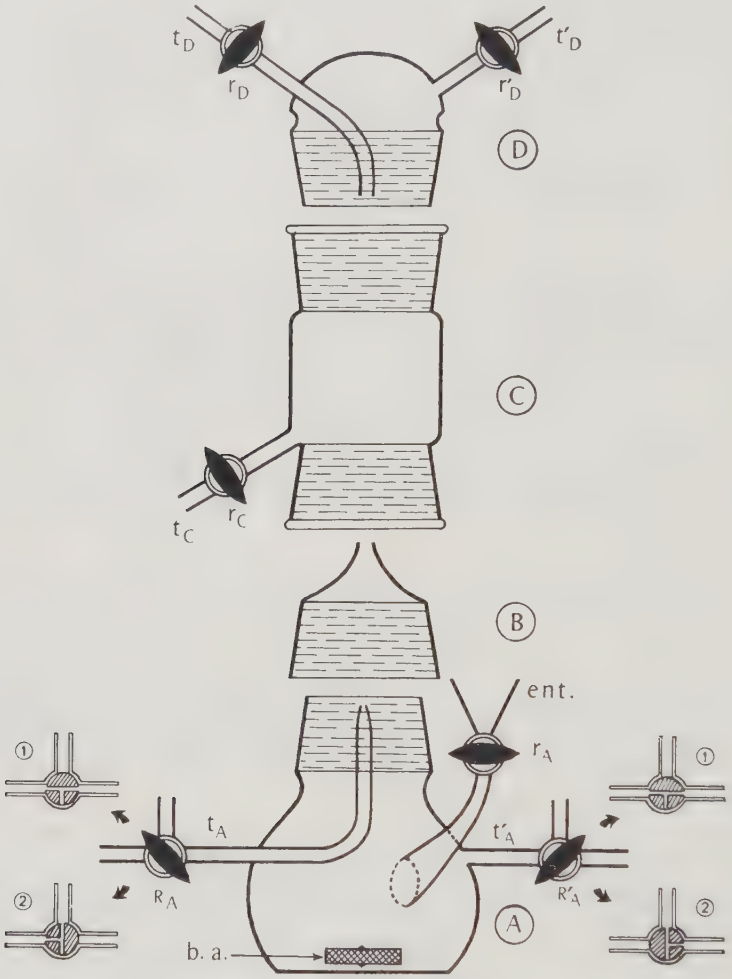

FIG. 40. — *Schéma des quatre pièces* (A, B, C, D) *de l'appareil utilisé pour doser l'oxygène qui traverse une enveloppe séminale imbibée.*

t_A et t'_A : tubulures permettant le balayage de la pièce A; R_A et R'_A : robinets à trois voies; *ent.* : entonnoir permettant l'introduction des réactifs; r_A : robinet; *b. a.* : barreau aimanté; t_C : tubulure permettant l'introduction d'eau dans la pièce C; r_C : robinet; t_D et t'_D : tubulures servant à l'introduction d'oxygène; r_D et r'_D : robinets.

— *Introduction d'oxygène au-dessus de l'enveloppe séminale.* — Le niveau de l'eau est abaissé (*niveau 2*) de façon à ce que l'enveloppe imbibée plonge dans l'atmosphère sus-jacente constituée par de l'air ou de l'oxygène pur.

— *Fixation de l'oxygène par le réactif.* — La quantité d'oxygène qui traverse l'enveloppe est extrêmement faible. Pour que sa fixation par le réactif soit totale, l'appareil est placé sur un agitateur magnétique, le petit barreau aimanté provoquant un brassage de l'atmosphère de la chambre de réaction.

Nous laissons l'expérience se poursuivre ainsi pendant 3 à 6 heures. L'oxygène est alors totalement chassé de l'athmosphère qui surmonte

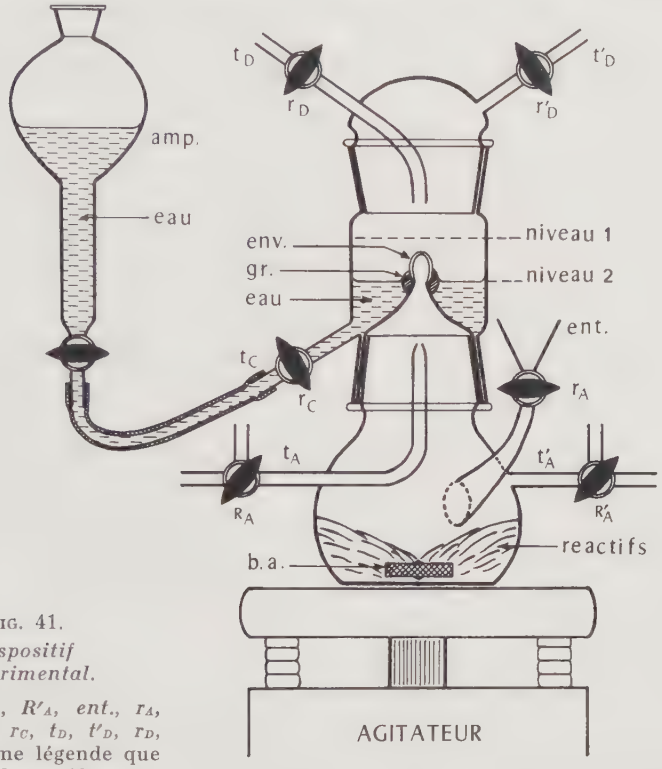

FIG. 41.
Dispositif expérimental.

t_A, t'_A, R_A, R'_A, *ent.*, r_A, *b.a.*, t_C, r_C, t_D, t'_D, r_D, r'_D : même légende que pour la figure 40. *env.* : enveloppe séminale; *gr.* : graisse; *amp.* : ampoule permettant de faire varier le niveau de l'eau dans la pièce *C (niveau 1* et *niveau 2)*.

l'enveloppe, par de l'azote. L'eau est évacuée. La fixation de l'oxygène est poursuivie pendant une nuit.

c) DOSAGE DE L'OXYGÈNE FIXÉ. — Le balayage d'azote est rétabli dans la chambre de réaction et le réactif est acidifié par addition de 5 ml de ClH 12N. On obtient une solution limpide, stable à l'air, plus ou moins brune selon la quantité d'oxygène fixée. Si celle-ci est relativement importante, il faut introduire 10 ml de ClH pour obtenir la dissolution totale du précipité.

La chambre de réaction est ouverte et 20 ml de réactif sont prélevés. On y ajoute 5 ml d'une solution de IK à 100 mg/ml. L'iode

libéré est tiré par une solution de $S_2O_3Na_2$ N/100, à l'aide d'une burette de 10 ml graduée au 1/20 de ml.

1 ml de $S_2O_3Na_2$ N/100 utilisé correspond à la fixation de 0,08 mg ou 56 µl d'oxygène par le réactif. Ayant déterminé, dans un dosage témoin préalable, la quantité d'oxygène contenue dans le réactif, la quantité d'oxygène fixée peut être facilement déterminée.

3° **Critique de la technique.** — La mise au point de cette technique a été extrêmement délicate pour deux raisons essentielles.

Aucune trace d'oxygène parasite ne doit pénétrer dans la chambre de réaction au cours des diverses manipulations. En particulier, l'appareillage ne doit comprendre aucun raccord souple (caoutchouc ou matières plastiques) dont la perméabilité à l'oxygène n'est jamais nulle. La technique utilisée a résolu ce problème.

La fixation de l'oxygène par le réactif doit être totale. Pour nous assurer que notre tech-

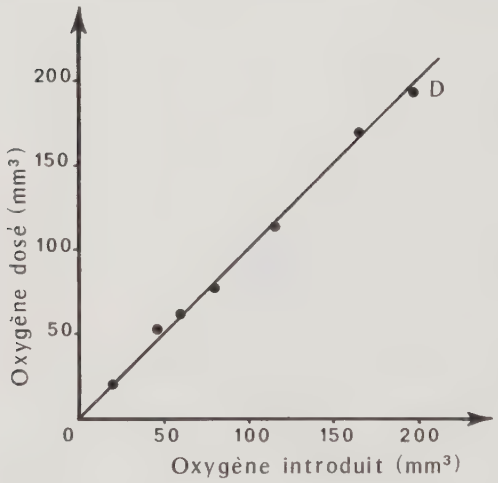

Fig. 42. — *Résultats des dosages de quantités connues d'oxygène.*
Droite *D* : bissectrice des axes où devraient se trouver les points expérimentaux.

nique répond bien à cette exigence, nous avons introduit dans l'appareil des quantités connues d'oxygène et nous avons dosé l'oxygène fixé par le réactif. Les résultats obtenus (fig. 42) sont très satisfaisants.

— L'erreur commise sur le dosage est infime; elle n'excède pas 2 ou 3 µl d'oxygène.

— L'inconvénient majeur de la technique réside dans le mode de fixation de l'enveloppe séminale. La surface libre de celle-ci varie légèrement d'une enveloppe à l'autre, de sorte qu'il est difficile de comparer la perméabilité de deux enveloppes différentes si ces perméabilités sont assez voisines, mais on peut suivre l'évolution de la perméabilité d'une même enveloppe placée dans des conditions bien déterminées.

2° *Résultats.*

1° **Relation entre la perméabilité à l'oxygène d'une enveloppe séminale imbibée et sa capacité de fixation d'oxygène.** — *a)* Mesure de la perméabilité a l'oxygène. — Cette étude est faite à 20° C, à l'aide de deux séries d'enveloppes séminales (variété Reinette du Mans) dont l'une est

mise au contact d'air et l'autre en présence d'oxygène pur. Les enveloppes sont prélevées dès la récolte des fruits et maintenues imbibées pendant toute la durée de l'expérience. La figure 43 montre que :

— les enveloppes laissent passer plus d'oxygène lorsqu'elles sont en présence d'oxygène pur que lorsqu'elles sont dans l'air;

— la perméabilité des enveloppes à l'oxygène décroît rapidement avec le temps pour devenir pratiquement nulle après quelques jours,

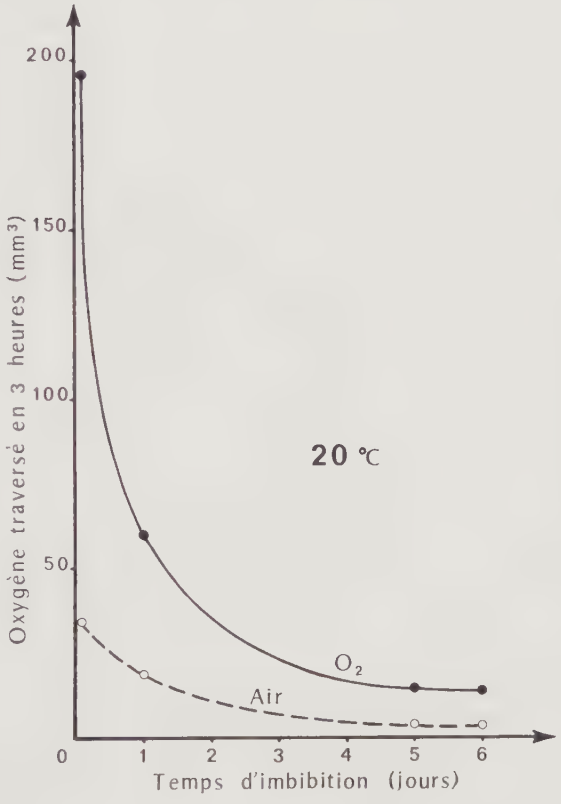

Fig. 43.

Variation, en fonction du temps, de la quantité d'oxygène qui traverse en 3 heures deux enveloppes séminales imbibées, l'une en présence d'air, l'autre en présence d'oxygène pur.

Mesures faites à 20° C, dès la récolte des fruits (var. *Reinette du Mans*).

même si elles sont en présence d'oxygène pur. On conçoit donc aisément que de telles enveloppes inhibent la germination. Cette constatation peut fournir, en outre, une explication à la non-amélioration de la germination par les fortes tensions d'oxygène.

Ces courbes permettent aussi de comprendre pourquoi une graine capable de germer exprimera très vite cette possibilité; ses enveloppes ne sont en effet perméables à l'oxygène que quelques jours.

b) Mesure de la capacité de fixation d'oxygène. — La mesure de la capacité de fixation d'oxygène par les enveloppes séminales de même origine est conduite à l'appareil de Warburg avec les enveloppes externes, les enveloppes internes et les deux enveloppes réunies.

Dans tous les cas, et surtout avec les enveloppes internes, la vitesse de fixation d'oxygène augmente avec le temps, surtout pendant les 20 premières heures de la mesure (fig. 44). Autrement dit, les enveloppes fixent moins d'oxygène en début qu'en fin d'expérience.

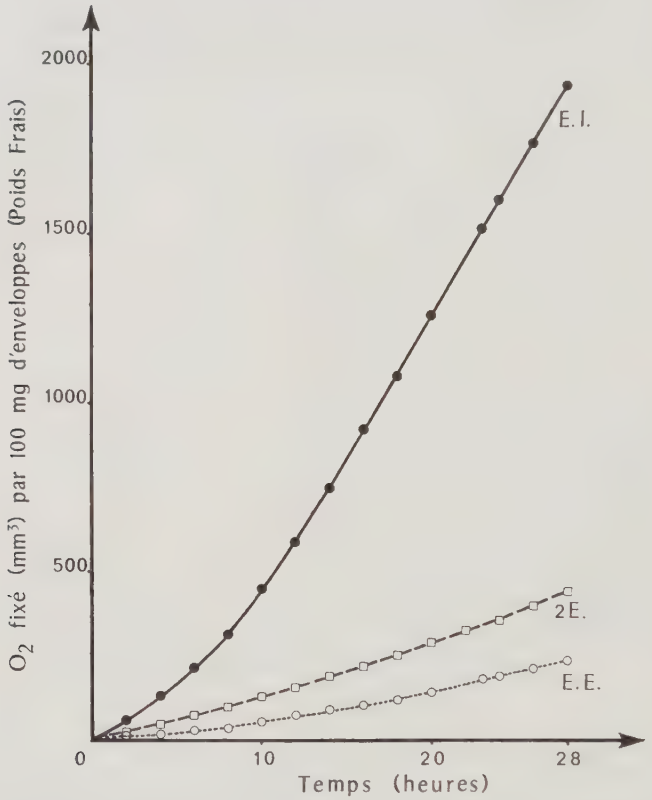

Fig. 44. — *Variation, en fonction du temps, de la quantité d'oxygène fixée par 100 mg* (matière fraîche) *d'enveloppes séminales.*

Mesures faites à 25° C, dès la récolte des fruits (var. *Reinette du Mans*), avec les enveloppes internes *(E. I.)*, les enveloppes externes *(E. E.)* et les deux enveloppes réunies *(2 E.)*.

c) Conclusion : comparaison des deux types de résultats. — La comparaison des figures 43 et 44 met en évidence une correspondance très nette entre la diminution de la perméabilité des enveloppes à l'oxygène et l'augmentation de leur capacité de fixation d'oxygène.

Les enveloppes laissent passer d'autant moins d'oxygène vers l'embryon qu'elles en fixent plus. Ce résultat semble vérifier notre hypothèse sur le mécanisme de l'inhibition tégumentaire.

2° **Influence de la température.** — La perméabilité à l'oxygène des enveloppes séminales de même origine que les précédentes, a été mesurée, non plus à 20° C mais à 4° C. Les résultats obtenus sont très

différents. Alors qu'à 20° C (fig. 43) les enveloppes séminales deviennent rapidement imperméables à l'oxygène, à 4° C (fig. 45) elles voient leur perméabilité augmenter très nettement avec le temps, surtout lorsqu'elles sont en présence d'oxygène pur.

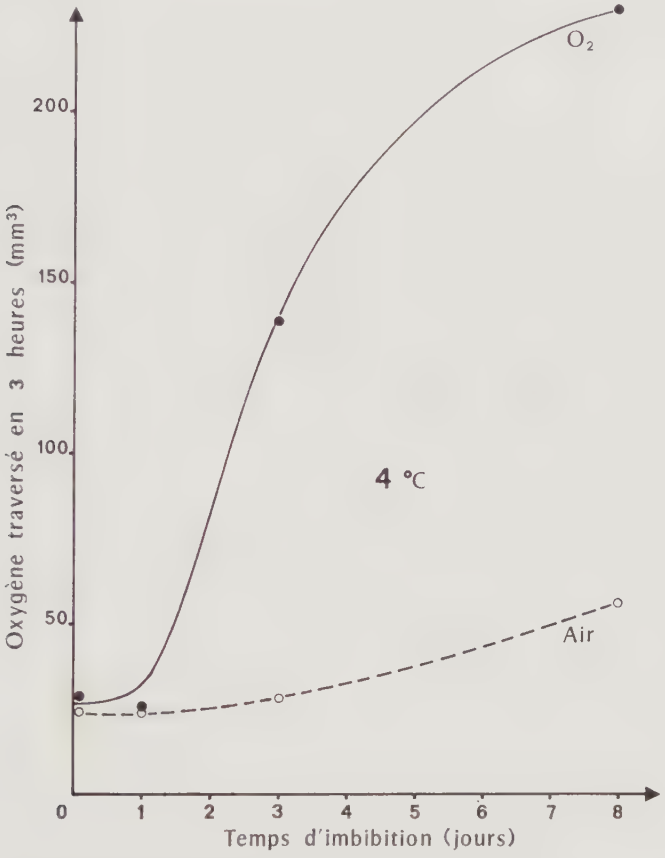

FIG. 45. — *Variation, en fonction du temps, de la quantité d'oxygène qui traverse en 3 heures deux enveloppes séminales imbibées, l'une en présence d'air, l'autre en présence d'oxygène pur.*

Mesures faites à 4° C, dès la récolte des fruits (var. *Reinette du Mans*).

L'explication de l'influence de la température de germination sur l'intensité de l'inhibition tégumentaire devient alors très facile. *La température agit sur la perméabilité à l'oxygène des enveloppes séminales.* Le schéma proposé (fig. 39) est donc bien exact.

V. — *CONCLUSION*

Les divers modes d'expérimentations rapportés ici portent sur les principaux éléments mis en cause pour expliquer l'inhibition tégumentaire des graines de Pommier.

— Le dosage de la phloridzine des enveloppes séminales met en valeur leur richesse exceptionnelle en composés phénoliques; il n'y a cependant pas de relation très nette entre la teneur des enveloppes en phloridzine et leur pouvoir inhibiteur.

— Chaque fois qu'il est possible de réduire la fixation d'oxygène par les phénols tégumentaires, la germination est favorisée.

— *Il y a toujours une corrélation parfaite entre l'intensité de l'inhibition tégumentaire, la capacité de fixation d'oxygène par les enveloppes séminales et la perméabilité de celles-ci à l'oxygène.*

Tous les résultats concourent en faveur de notre hypothèse sur le mécanisme de l'inhibition tégumentaire des graines de Pommier.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les graines de Pommier constituent un matériel de choix pour l'étude physiologique de la germination. Leur grande taille permet des interventions localisées. Leurs enveloppes peuvent être très facilement enlevées; il est donc facile de savoir si la non-germination d'une graine tient à l'embryon ou aux enveloppes. Elles présentent des phénomènes de dormance embryonnaire et d'inhibition tégumentaire dont nous pouvons faire varier à volonté l'intensité.

La dormance embryonnaire se manifeste le plus souvent par une croissance paresseuse et anormale des jeunes plantules qui reflète l'état de dormance des embryons. Elle est progressivement levée par prétraitement des graines humides par les températures relativement basses. Des amputations localisées des cotylédons ont mis en évidence le rôle prépondérant de ceux-ci dans la dormance embryonnaire.

Une inhibition tégumentaire ne se manifeste que lorsque les graines subissent leur post-maturation au sein des fruits. Son intensité varie avec la variété, les conditions de post-maturation (température et durée) et avec les conditions de germination (température essentiellement); nous pouvons alors obtenir à volonté des graines dans un état d'inhibition déterminé. Cette particularité nous a permis d'aborder et de comprendre le mécanisme de l'inhibition tégumentaire.

La mise en évidence de composés phénoliques tégumentaires et de leur oxydation au sein des enveloppes séminales nous a conduit à émettre l'hypothèse selon laquelle l'oxydation de ces composés consomme une partie de l'oxygène qui traverse les enveloppes séminales et réduit d'autant l'apport d'oxygène à l'embryon. Divers modes d'expérimentations vérifient parfaitement cette hypothèse et aucune ne la contredit. La mesure quantitative de la perméabilité à l'oxygène des enveloppes séminales est particulièrement convaincante. Nous avons donc démontré que l'inhibition tégumentaire est bien liée en définitive à une perméabilité insuffisante des enveloppes séminales à l'oxygène.

Cette conception du phénomène permet d'expliquer correctement l'ensemble du comportement des graines de Pommier.

Il reste à préciser comment le péricarpe intervient dans l'inhibition tégumentaire. Est-il responsable du développement de cette inhibition ou empêche-t-il son élimination ? Les embryons étant dormants lors de la récolte des fruits, il est en effet difficile de savoir avec certitude si l'inhibition tégumentaire existe déjà à cette époque. Dans l'affirmative, il faut admettre que le prétraitement des graines hors des fruits élimine

cette inhibition. Les faits suivants plaident d'ailleurs en faveur de cette hypothèse :

— les enveloppes séminales sont très riches en composés phénoliques dès la récolte des fruits;

— ces mêmes enveloppes sont très peu perméables à l'oxygène aux températures moyennes;

— chez certaines variétés, la teneur en phloridzine des enveloppes séminales diminue au cours du prétraitement des graines hors des fruits.

Par contre, d'autres résultats semblent indiquer que la présence du péricarpe est nécessaire au développement de l'inhibition tégumentaire :

— l'intensité de cette inhibition augmente avec la température et la durée du prétraitement des graines au sein des fruits;

— la capacité de fixation d'oxygène par les enveloppes séminales augmente dans les mêmes conditions.

Toutefois, si le péricarpe intervient, ce n'est pas comme source de composés phénoliques puisque leur concentration dans les enveloppes séminales ne varie pas au sein des fruits.

En fait, l'inhibition tégumentaire existe déjà vraisemblablement à l'époque de la récolte, mais elle s'intensifie au cours du prétraitement des graines au sein des fruits alors qu'elle s'atténue quand les graines sont prétraitées hors des fruits. Une précision sera sans doute apportée par l'étude de la germination des graines récoltées au cours de leur développement, avant la maturité des fruits.

Enfin, l'étude de la nature et du mécanisme de la dormance embryonnaire primaire et secondaire des graines de Pommier constitue un programme de recherche très vaste et très prometteur.

BIBLIOGRAPHIE

Abbott (D. L.), 1955. — Temperature and the dormancy of apple seeds. *XIVth Intern. Horticult. Cong.* (La Haye-Scheveningen), **1**, p. 746-753.

Abramov (A. N.), 1955. — Influence of some biological factors on the duration of the dormancy period in apple seeds (en russe). *Izv. Akad. Nauk S. S. S. R., Ser. Biol.*, **1**, p. 53-66.

Adams (J.), 1927. — The germination of the seeds of some plants with fleshy fruits. *Amer. J. Bot.*, **14**, p. 415-428.

Akkerman (A. M.) et Veldstra (H.), 1947. — The chemical nature of Köckemann's blastocholine from *Lycopersicum esculentum* Mill. *Rec. Trav. Chim.*, **66**, 411-412.

Amen (R. D.), 1964. — The concept of seed dormancy. *Wallerstein Labo. Communic. U. S. A.*, **27**, 92, p. 7-18.

Ascherson (P.), 1875. — Keimung im innern eines Apfels. *Verhandl. Bot. Verein Prov. Brandenburg*, **17**, p. 79-80.

Astié (M.), 1962. — Inhibition de la germination par les substances naturelles. Extr. *Bull. Soc. Pharm. de l'Ouest*, **4**, p. 61-82.

Aubertin (M. P.), 1959. — The growth and development of embryo and endosperm in relation to seed abortion in certain tetraploid apples. *Dissert. Abstr.*, **20**, 1, p. 15-16.

Bartlett (C. E. C.), 1961. — The after-ripening of apple seeds in the fruit during cold storage. *A. R. Agric. Hort. Res. Sta. Long Ashton, U. K.*, p. 66-67.

Barton (L. V.), 1928. — Hastening the germination of southern pine seeds. *J. Forest.*, **26**, p. 774-785. — 1930. Hastening the germination of some coniferous seeds. *Amer. J. Bot.*, **17**, p. 88-115, et *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **2**, p. 315-342. — 1936. Germination of some desert seeds. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **8**, p. 7-11. — 1939. Experiments at Boyce Thompson Institute on germination and dormancy in seeds. *Sci. Hort.*, **7**, p. 186-193. — 1940. Some effects of treatment of seeds with growth substances on dormancy. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **11**, p. 229-240. — 1944. Some seeds showing special dormancy. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **13**, p. 259-271. — 1950. Relation of different gases to the soaking injury of seeds. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **16**, p. 55-71. — 1965 *a*. Seed dormancy : General survey of dormancy types in seeds, and dormancy imposed by external agents. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **15**, 2, p. 699-720. — 1965 *b*. Dormancy in seeds imposed by the seed coat. *Handb. Pflanzenphysiol.*, **15**, 2, p. 727-745.

Bedrosian (K.), Nelson (A. I.) et Steinberg (M. P.), 1959. — Effect of borates and other inhibitors on enzymic browning in apple tissue. *Food Technol.*, **13**, p. 722-756.

Bělehrádek (J.), 1935. — *Temperature and living matter.* Gebrüder Borntraeger, éd., 277 p.

Binet (P.), 1961. — Action d'une brusque modification de pression osmotique et de pH sur la germination des semences de *Triglochin maritimum* L. Extr. *Bull. Soc. Linnéenne de Normandie*, 10e sér., 2e vol., p. 116-123.

Black (M.), 1956. — Interrelationships of germination inhibitors and oxygen in the dormancy of seed of *Betula*. *Nature*, **178**, p. 924-925.

Black (M.) et Wareing (P. F.), 1959. — The role of germination inhibitors and oxygen in the dormancy of light-sensitive seed of *Betula* spp. *J. Exp. Bot.*, **10**, p. 134-145.

Bogdanski (C.), 1950. — Contribution à l'étude du système oxydo-réducteur des jus de pommes. *L'année biologique*, **26**, 11, p. 681-682. — 1957. Pouvoir réducteur des jus de fruits en relation avec leur valeur antiscorbutique. *L'année biologique*, **33**, p. 427-452.

Bolotskij (J. S.), 1959. — Nouvelles méthodes de prétraitement des graines de divers arbres fruitiers avant leur semis (en russe). *Bjull glavn. bot. Sada S. S. S. R.*, **34**, p. 82-86.

Bonner (J.) et Galston (A. W.), 1944. — Toxic substances from the culture media of guayule which may inhibit growth. *Bot. Gaz.*, **106**, p. 185-198.

Börner (H.), 1955. — Untersuchungen über phenolische Verbindungen aus Getreidestroh und Getreiderückständen. *Naturwiss.*, **42**, p. 583-584.

Borriss (H.), 1936. — Die Zusammenwirkung von Substrat, Temperatur und Licht bei der Keimung von *Vaccaria pyramidata*. *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **54**, p. 472-474. — 1940. Ueber die inneren Vorgänge bei der Samenkeimung und ihre Beeinflussung durch Aussenfaktoren. *Jb. wiss Bot.*, **89**, p. 254-339.

Bradfield (A. E.), Flood (A. E.), Hulme (A. C.) et Williams (A. H.), 1952. — Chlorogenic acid in fruit trees. *Nature*, **170**, p. 168.

Brown (R.), 1942. — The gaseous exchange of seeds and isolated cotyledons of *Cucurbita pepo*. *Ann. Bot.*, n. s., **6**, p. 297-321. — 1943. Studies in germination and seedling growth. I. The water content, gaseous exchange and dry weight of attached and isolated embryos of barley. *Ann. Bot.*, n. s., **7**, p. 93-113. — 1965. Physiology of seed germination. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **15**, 2, p. 894-908.

Bulard (C.) et Monin (J.), 1960 *a*. — Action de l'acide gibberellique sur des embryons dormants d'*Evonymus europæus* cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci.*, **250**, p. 2922-2924. — 1960 *b*. Graines et embryons dormants d'*Evonymus europæus* : Différentes modalités dans l'éveil de leur dormance par l'acide gibberellique. *C. R. Acad. Sci.*, **250**, p. 4197-4199. — 1963. Etude du comportement d'embryons de *Fraxinus excelsior* L. prélevés dans des graines dormantes et cultivés *in vitro*. *Phyton*, **20**, 2, p. 115-125.

Bünning (E.), 1947. — Die endogene Ruheperiode der Samen. *Planta*, **35**, p. 352-359.

Bytschikhina (E. A.), 1930. — Winter wheats of Ukraina and their after-ripening (en russe). *Trudy prikl. Bot., Gen. i Selekc.*, **23**, 2, p. 299-347.

Carr (D. J.), 1961. — Chemical influence of the environment. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **16**, p. 737-794.

Cavalié (G.), 1964. — Mise en évidence par chromatographie sur papier d'acides phénoliques et de coumarines dans les feuilles de Céleri (*Apium graveolens* L.) atteint par la septoriose [*Septoria apii* (Briosi et Cav.) (Chest)]. *C. R. Acad. Sci.*, **258**, p. 689-691.

Chouard (P.), 1954. — *Dormances et inhibitions des graines et des bourgeons. Préparation au forçage. Thermopériodisme*. C. D. U. éd., Paris, 157 p. — 1956. L'action des températures basses sur les plantes. *XIVth Intern. Horticult. Cong.* (La Haye-Scheveningen), **1**, p. 14-38.

Côme (D.), 1960. — Etude des conditions des échanges gazeux respiratoires du marron d'Inde au moyen de « l'effet Devaux ». *Rev. Gén. Bot.*, **67**, p. 18-32. — 1961. Etude expérimentale de la perméabilité à différents gaz du tégument de quelques graines de taille réduite. *C. R. Acad. Agric. France*, **47**, p. 55-62. — 1962 *a*. Etude expérimentale de la diffusion de l'oxygène et du gaz carbonique à travers les enveloppes séminales. *J. Rech. C. N. R. S.*, **59**, p. 187-194. — 1962 *b*. Comment l'oxygène nécessaire à la germination des graines parvient-il à l'embryon ? *Rev. Gén. Bot.*, **69**, p. 563-573.

Crocker (W.), 1928. — Storage, after-ripening, and germination of apple seed. *Amer. J. Bot.*, **15**, p. 625-626. — 1948. *Growth of plants; twenty years' research at Boyce Thompson Institute*. Reinhold Publishing Corp., éd., New York, 459 p.

Crocker (W.) et Barton (L. V.), 1931. — After-ripening, germination, and storage of certain rosaceous seeds. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **3**, p. 385-404. — 1953. *Physiology of seeds. An introduction to the experimental study of seed and germination problems*. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., U. S. A., 267 p.

Davis (W. E.), 1930 *a*. — Primary dormancy, after-ripening, and development of secondary dormancy in embryos of *Ambrosia trifida*. *Amer. J. Bot.*, **17**, p. 58-76. — 1930 *b*. The development of dormancy in seeds of cocklebur (*Xanthium*). *Amer. J. Bot.*, **17**, p. 77-87.

Delaporte (N.), 1967. — Mise au point d'une technique de dosage de l'acide ascorbique par destruction photochimique, dans les végétaux congelés (sous presse).

De Roubaix (J.) et Lazar (O.), 1960. — The inhibitory substances contained in sugar beet glomerules. in *Phenolics in Plants in Health and Disease*. J. B. Pridham, éd., Pergamon Press, New York, p. 35-42.

Durkee (A. B.) et Poapst (P. A.), 1965. — Phenolic constituants in core tissues and ripe seed of Mc Intosh apples. *J. Agr. Food Chem.*, **13**, 2, p. 137-139.

Eliason (E. J.) et Heit (C. E.), 1941. — The effect of light and temperature on the dormancy of Scotch pine seed. *Proc. Ass. Off. Seed Anal. N. Amer.*, **32**, p. 92-102.

Evans (W. R.), 1961. — The partial purification and properties of a germination inhibitor (s) isolated from apple seed. *Dissert. Abstr.*, U. S. A., **22**, 1, p. 49.

Evenari (M.), 1940. — On germination inhibitors. I. Introduction. *Pal. J. Bot. Jer. Ser.*, **2**, p. 1-5. — 1949. Germination inhibitors. *Bot. Rev.*, **15**, p. 153-194. — 1957 *a*. Les problèmes physiologiques de la germination. *Bull. Soc. Franç. Physiol. Végét.*, **3**, 4, p. 105-124. — 1957 *b*. The physiological action and biological importance of germination inhibitors. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **11**, p. 21-43. — 1961. A survey of the work done in seed physiology by the department of botany, Hebrew University, Jerusalem (Israel). *Proc. Int. Seed Test. Ass.*, **26**, 4, p. 597-658.

Evenari (M.), Konis (E.) et Zirkin (D.), 1947. — On the germination of some rosaceous seeds. I. The germination of apple seeds. *Pal. J. Bot. Jer. Ser.*, **4**, p. 86-89. — 1948. On the germination of some rosaceous seeds. II. The germination of Kerassi seeds. *Pal. J. Bot. Jer. Ser.*, **4**, p. 166-170.

Flemion (F.), 1929. — Dormancy, after-ripening, and germination of *Sorbus aucuparia*. *Amer. J. Bot.*, **16**, p. 854. — 1931. After-ripening, germination and vitality of seeds of *Sorbus aucuparia* L. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **3**, p. 413-439. — 1934. Dwarf seedling from non-after-ripened embryos of peach, apple and hawthorn. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **6**, p. 205-209. — 1938. Breaking the dormancy in seeds of *Crataegus* species. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **9**, p. 409-423. — 1955. Physiological and chemical changes occurring prior to, during and subsequent to germination of some rosaceous seeds. *XIVth Intern. Horticult. Cong.* (La Haye-Scheveningen), **II**, p. 1197-1200. — 1956. Effects of temperature, light and nutrients on physiological dwarfing in peach seedlings. *Plant Physiol.*, **31**, suppl. iii. — 1959. Effect of temperature, light and gibberellic acid on stem elongation and leaf development in physiologically dwarfed seedlings of peach and *Rhodotypos*. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **20**, p. 57-70.

Flemion (F.) et Prober (P. L.), 1960. — Production of peach seedlings from unchilled seeds. I. Effect of nutrients in the absence of cotyledonary tissue. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **20**, p. 409-419.

Flemion (F.) et Waterbury (E.), 1945. — Further studies with dwarf seedlings of non-after-ripened peach seeds. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **13**, p. 415-422.

Franke (W.), 1960. — Phenoloxydasen und Ascorbinsäureoxydase. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **12**, 1, p. 401-455.

Froeschel (P.), 1939 *a*. — Onderzoekingen over de physiologie van de Kieming. I. Remstoffen. *Naturwet. Tijdschr.*, **21**, p. 93-116. — 1939 *b*. Remstoffen van zaden en hun invloed op het Keimingspercentage. *Med. Landbouwh.*, **7**, p. 238-253. — 1940. Untersuchungen zur physiologie der Keimung. II. Hemmstoffe. *Biol. Jaarb. Dodonea*, **7**, p. 73-116.

Gill (N. T.), 1938. — The viability of weed seeds at various stages of maturity. *Ann. Appl. Bot.*, **25**, p. 447-456.

Gindel (I.), 1960. — Biological function of fruit. *Nature*, **187**, 4731, p. 42-44.

Grochowska (M. J.), 1963. — Studies on natural growth regulators in apple trees in relation to biennial bearing. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, **11**, p. 585-590. — 1964. Identification of the growth inhibitor connected with flower bud formation in apple. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, **12**, p. 379-383. — 1966. Chromatographic degradation of phloridzin. *Plant Physiol.*, **41**, p. 432-436.

Guern (J.), 1964. — Remarques à propos des méthodes d'extraction, de purification et d'identification des inhibiteurs de croissance. Colloques Internat. du C. N. R. S.: *Régulateurs Naturels de la croissance végétale.*, C. N. R. S., éd., Paris, n° 123, p. 353-362.

Guyot (M.) et Dupuy (P.), 1962. — Influence de la tension d'oxygène sur la germination. *87e Cong. Soc. Savantes*, p. 991-996.

Hancock (C. R.), Barlow (H. W. B.) et Lacey (H. J.), 1961. — The behaviour of phloridzin in the coleoptile straight growth test. *J. Exp. Bot.*, **12**, p. 401-408.

Harrington (J. F.), 1962. — The effect of temperature on the germination of several kinds of vegetable seeds. *XVIth Intern. Horticult. Cong.* (Bruxelles), **II**, p. 435-441.

Harrington (G. T.) et Hite (B. C.), 1923. — After-ripening and germination of apple seeds. *J. Agric. Res.*, **23**, p. 153-161.

Haut (I. C.), 1932. — The influence of drying on the after-ripening and germination of fruit-tree seeds. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **29**, p. 371-374.

Hemberg (T.), 1949 *a*. — Significance of growth-inhibiting substances and auxins for the rest period of potato tuber. *Physiol. Plant.*, **2**, p. 24-36. — 1949 *b*. Growth-inhibiting substances in terminal buds of *Fraxinus*. *Physiol. Plant.*, **2**, p. 37-44. — 1965. The significance of inhibitors and other chemical factors of plant origin in the induction and breaking of rest periods. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **15**, 2, p. 669-698.

Henderson (J. H. M.) et Nitsch (J.-P.), 1962. — Effect of certain phenolic acids on the elongation of *Avena* first internodes in the presence of auxins and tryptophan. *Nature*, **195**, p. 780-782.

Hill (A. G. G.) et Campbell (G. K. G.), 1949. — Prolonged dormancy of deciduous fruit-trees in warm climates. *Emp. J. Exp. Agric.*, **17**, p. 259-264.

Hulme (A. C.), 1953. — The isolation of chlorogenic acid from the apple fruit. *Biochem. J.*, **53**, 3, p. 337-340.

Hutchinson (A.), Taper (C. D.) et Towers (G. H. N.), 1959. — Studies of phloridzin in *Malus*. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **37**, p. 901-910.

Jahnel (H.) et Zentsch (W.), 1961. — Beiträge zum Stratifizieren von Forstsaatgut. IV. *Fraxinus excelsior* L. *Angew. Bot. Dtsch.*, **34**, 5, p. 221-245.

Jennings (D. L.) et Tulloch (M. M.), 1965. — Studies on factors witch promote germination of raspberry seeds. *J. Exp. Bot.*, **16**, 47, p. 329-340.

Jones (H. A.), 1920. — Physiological study of maple seeds. *Bot. Gaz.*, **69**, 2, p. 127-152.

Joslyn (M. A.) et Ponting (J. D.), 1951. — Enzymic-catalysed oxidative browning of fruit browning. *Adv. Food Res.*, **3**, p. 1-44.

Kester (D. E.), 1953. — Factors affecting the aseptic culture of Levell peach seedling. *Hilgardia*, **22**, p. 335-365.

Killian (C.) et Lemée (G.), 1956. — Les xérophytes : leur économie d'eau. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **3**, p. 787-824.

Koblet (R.), 1937. — Untersuchungen über die Keimung von Kernobstsamen. *Proc. Internat. Seed Test. Ass.*, **9**, p. 82-122.

Köckemann (A.), 1934. — Ueber eine keimungshemmende substanz in fleischigen Früchten. *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **52**, p. 523-526. — 1936. Zur Frage der Keimungshemmenden Substanzen in fleischigen Früchten. *Beih. Bot. Centralbl.*, **55 A**, p. 191-196.

Koller (D.), Mayer (A. M.), Poljakoff-Mayber (A.) et Klein (S.), 1962. — Seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **13**, p. 437-464.

Konis (E.), 1940. — On germination inhibitors. II. On the action of germination inhibiting substances in the tomato fruit. *Pal. J. Bot. Jer. Ser.*, **2**, p. 6-27.

Korstian (C. F.), 1927. — Factors controlling germination and early survival in oaks. *Yale Univ. Forestry School Bull.*, n° 19.

Kotowski (F.), 1926. — Temperature relations to germination of vegetable seeds. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **23**, p. 176-184.

Köves (E.), 1957. — Papierchromatographische Untersuchungen der ätherlöslichen keimungs- und wachstumshemmen den Stoffe der Haferspelze. *Acta Biol. Szeged.*, **3**, p. 179-187.

Lalaurie (M.), 1957. — Germination des akènes. Relation avec le poids et la taille. *Soc. Pharm. Montpellier*, Séance du 12 nov. 1957, p. 138-146.

Lammerts (W. E.), 1942. — Embryo culture an effective technique for shortening the breeding cycle of deciduous trees and increasing germination of hybrid seed. *Amer. J. Bot.*, **29**, p. 166-172.

Lang (A.), 1965. — Effects of some internal and external conditions on seed germination. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **15**, 2, p. 848-893.

Larmour (R. K.), Sallans (H. R.) et Graig (B. M.), 1944. — Respiration of the whole and hulled sunflower seed and of flax seed. *Canad. J. Res.*, **F 22**, p. 9-18.

Lasheen (A. M.) et Blackhurst (H. T.), 1956. — Biochemical changes associated with dormancy and after-ripening of blackberry seed. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **67**, p. 331-340.

Lavialle (P.), 1929. — Observations et considérations sur la germination accidentelle des graines au sein des fruits charnus. *Bull. Soc. Bot. France*, **76**, p. 276-279.

Legrand (G.) et Bogdanski (C.), 1950. — Oxydation de l'acide ascorbique par les jus de pomme. *C. R. Acad. Sci.*, **230**, 23, p. 2039-2041.

Likhonos (F. D.), 1959. — Sur quelques particularités biologiques de graines et de jeunes plants d'arbres fruitiers (en russe). *Bot. Zh., S. S. S. R.*, **44**, 9, p. 1341-1344.

Luckwill (L. C.), 1952. — Crowth-inhibiting and growth-promoting substances in relation to the dormancy and after-ripening of apple seeds. *J. Hort. Sci.*, **27**, p. 53-64. — 1957. Studies of fruit development in relation to plant hormones. IV. Acidic auxins and growth inhibitors in leaves and fruits of the apple. *J. Hort. Sci.*, **32**, p. 18-33.

Marcellin (P.), 1960. — Etude expérimentale de la diffusion de l'air et du gaz carbonique à travers les fruits (Effet Devaux). *Rev. Gén. Bot.*, **67**, p. 1-13.

Martin (C.), 1958. — Etude de quelques déviations de métabolisme chez les plantes atteintes de maladies à virus. *Thèse Doct. Sc. Nat.*, Paris, 73 p.

Martin (M.), 1964. — Influence de la température sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* Benth. *C. R. Acad. Sci.*, **261**, 6, p. 1877-1880.

Martin (G. C.) et Williams (M. W.), 1964. — Quantitative phloridzin analysis. *Anal. Biochem. U. S. A.*, **8**, 2, p. 257-260.

Mason (H. S.), 1955. — Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Adv. Enzymol.*, **16**, p. 105-184.

Massart (L.), Belpaire (G.), Vernie (A.), Roubaix (J. de) et Lazar (O.), 1956. — L'acide férulique et autres substances inhibant la germination dans les glomérules de *Beta saccharifera*. *Arch. Internat. Physiol.*, **44**, p. 525-527.

Mayer (A. M.) et Poljakoff-Mayber (A.), 1963. — *The germination of seeds.* Pergamon Press, éd., New York, 236 p.

Mimault (J.), 1957. — Auxines et inhibiteurs de croissance des graines de Cerisier (variété « Bigarreau Napoléon »). *Rev. Gén. Bot.*, **64**, p. 25-33.

Molliard (M.), 1935. — Action d'un enrichissement de l'atmosphère en oxygène sur le développement des plantes. *C. R. Acad. Sci.*, **201**, p. 1160-1162.

Muller (C. H.), 1946. — Root development and ecological relations of guayule. *U. S. Dept. Agric. Techn. Bull.*, n° 923.

Müller (A.) et Robertson (A.), 1933. — Natural glucosides. VI. The hexose residuum of phloridzin. *J. Chem. Soc.*, p. 1170-1172.

Nihous (M.), 1939. — Considérations sur le repos des semences de quelques Rosacées (Pomacées). *C. R. Soc. Biol.*, **132**, p. 106-108.

Nitsch (J.-P.) et Nitsch (C.), 1961. — Synergie d'action entre les dérivés de l'acide chlorogénique et l'acide 3-indolylacétique. *Bull. Soc. Bot., France*, **108**, p. 349-362. — 1962. Composés phénoliques et croissance végétale. *Ann. Physiol. Végét.*, **4**, 3, p. 211-225.

Pammel (L. H.) et King (C. M.), 1962. — Studies on germination of trees and woody plants, continued. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, **33**, p. 97-119.

Paunović (S. A.), 1962. — Seed germination of deciduous fruit trees grown in Yugoslavia. *XIVth Intern. Horticult. Cong.* (Bruxelles), **III**, p. 5-10.

Pechoutre (F.), 1902. — Contribution à l'étude du développement de l'ovule et de la graine des Rosacées. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, s. 8, **16**, p. 1-158.

Petrov (A.) et Tjankova (L.), 1962. — Germination inhibitors in apple seeds (*Malus domestica* B.) (en russe). *C. R. Acad. Bulg. Sci.*, **15**, p. 223-226.

Pilet (P. E.) et Mimault (J.), 1959. — Etude biochromatographique des composés auxiniques de l'amande de Bigarreau. *Rev. Gén. Bot.*, **66**, p. 329-339.

Ponting (J. D.) et Joslyn (M. A.), 1948. — Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. *Arch. Biochem.*, **19**, p. 47-63.

Popcov (A. U.) et Buch (T. G.), 1960. — Le coefficient thermique de la germination des graines (en russe). *Bjull. glavn bot. Sada S. S. S. R.*, **38**, p. 56-63.

Pope (M. N.) et Brown (E.), 1943. — Induced vivipary in three varieties of barley possessing extreme dormancy. *J. Amer. Soc. Agron.*, **35**, p. 161-163.

Priestley (C. A.), 1959. — Seasonal changes in the carbohydrate resources of some six-year-old apple trees. *Ann. Rept. East Malling. Res. Stat.*, **109**, p. 70-77.

Rémy (P.), 1961. — Recherches physiologiques sur la maturation des graines d'arbres fruitiers à noyaux. *Thèse Doct. Sc. Nat.*, Bordeaux, 197 p.

Roberts (E. A. H.) et Wood (D. J.), 1950. — The fermentation process in tea manufacture. II. Oxidation of substrates by tea oxidase. *Biochem. J.*, **47**, p. 175-186.

Rollin (P.), 1963. — Influence de la lumière et de la température sur la germination. *Thèse Doct. Sc. Nat.*, Paris, 182 p. — 1965. Considérations générales sur les dormances et inhibitions des semences. *Rev. Soc. Sav. Haute-Normandie, Sci.*, **39**, p. 49-53. — 1966. *La physiologie de la germination*. C. D. U., éd., Paris, 64 p.

Schander (H.), 1952. — Untersuchungen über umweltbedingte Eigenschaften des Samens und Keimlings von Apfel und Birne. *Angew. Bot.*, **26**, p. 165-180. — — 1955 *a*. Keimungsphysiologische Studien an Kernobst. II. Untersuchungen über die allgemeinen Temperaturansprüche der Kernobstsamen während der Keimung. *Z. Pflanzenzücht*, **34**, p. 421-440. — 1955 *b*. Keimungsphysiologische Studien an Keirnobst. IV. Untersuchungen über Sortenunterschiede hinsichtlich der Temperaturansprüche und der Frostresistenz während der Keimung sowie über Alterungserscheinungen bei Samen von Kernobst. *Z. Pflanzenzücht*, **35**, p. 179-198. — 1956. Keimungsphysiologische Studien an Kernobst. V. Sortenvergleichende Untersuchungen über Einflüsse von Wärme- und Kältebehandlungen, die vor der Stratifizierung auf den Samen einwirkten. *Z. Pflanzenzücht.*, **35**, p. 345-361.

Scholander (P. F.), 1947. — Analyser for accurate estimation of respiratory gases in one-half cubic centimeter samples. *J. Biol. Chem.*, **167**, p. 235-250.

Shuck (A. L.), 1935. — The formation of a growth-inhibiting substance in germinating lettuce seeds. *Proc. Internat. Seed Test. Assoc.*, **7**, p. 9-14.

Simak (M.) et Gustafsson (A.), 1957. — Experimentell förbättring av de nordänska tellfröats. *Skogen*, **44**, p. 490-493. — 1959. Röntgenanalys och det nordänska tallfröets kvalitetsförbettring. *Svenska Skogsvårdsfören. Tidskr.*, **57**, p. 475-486.

Solov'ev (V. P.), 1961. — Effet du degré de l'humidification sur la germination des graines de cotonnier (en russe). *Fiziol Rasten S. S. S. R.*, **8**, 2, p. 244-246.

Stenlid (G.), 1963. — The effect of flavonoid compounds on oxidative phosphorylation and on the enzymatic destruction of indoleacetic acid. *Physiol. Plant.*, **16**, p. 110-120.

Stiles (W.) et Leach (W.), 1932. — Research on plant respiration. I. The course of respiration of *Lathyrus odoratus* (Sweet pea) during germination of the seed and the early development of the seedling. *Proc. Roy. Soc.* (London), **B 111**, p. 338-355. — 1933. Research on plant respiration. II. Variations in the respiratory quotient during germination of seeds with different food reserves. *Proc. Roy. Soc.* (London), **B 113**, p. 405-428.

Stone (E. C.), 1957. — Embryo dormancy of *Pinus jeffreyi* Murr. as affected by temperature, water uptake, stratification, and seed coat. *Plant. Physiol.*, **32**, p. 93-99.

Stout (M.) et Tolman (B.), 1941. — Factors affecting the germination of sugar-beet and other seeds, with special reference to the toxic effects of ammonia. *J. Agric. Res.*, **63**, p. 687-713.

Swain (T.) et Hillis (W. E.), 1959. — The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, **10**, p. 63-68.

Taylor (D. L.), 1942. — Influence of oxygen tension on respiration, fermentation, and growth in wheat and rice. *Amer. J. Bot.*, **29**, p. 721-738.

Thimann (K. V.), 1963. — Plant growth substances, past, present and future. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **14**, p. 1-18.

Thimann (K. V.) et Marré (E.), 1954. — Inhibition of growth of *Avena* coleoptile sections by phloridzin. *Amer. J. Bot.*, **41**, p. 556-560.

Thornton (N. C.), 1934. — The effect of reduced oxygen supply on the germination of cocklebur seed. *Amer. J. Bot.*, **21**, p. 710. — 1935. Factors influencing germination and development of dormancy in cocklebur seeds. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **7**, p. 477-496. — 1945. Importance of oxygen supply in secondary dormancy and its relation to the inhibiting mechanism regulating dormancy. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **13**, p. 487-500.

Timson (J.), 1965. — New method of recording germination data. *Nature*, **207**, 4993, p. 216-217.

Toole (E. H.), Hendricks (S. B.), Borthwick (H. A.) et Toole (V. K.), 1956. — Physiology of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **7**, p. 299-324.

Toole (E. H.) et Toole (V. K.), 1941. — Progress of germination of seed of *Digitaria* as influenced by germination temperature and other factors. *J. Agric. Res.*, **63**, p. 65-90.

Toole (V. K.), Bailey (W. K.) et Toole (E. H.), 1964. — Factors influencing dormancy of peanut seeds. *Plant Physiol.*, **39**, 5, p. 822-832.

Tukey (H. B.) et Carlson (R. F.), 1945 *a*. — Morphological changes in peach seedlings induced by after-ripening treatments of the seed. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **46**, p. 203-204. — 1945 *b*. Morphological changes in peach seedlings following after-ripening treatments of the seeds. *Bot. Gaz.*, **106**, p. 431-440.

Ulrich (R.), 1954. — *La conservation par le froid des denrées d'origine végétale*. J. B. Baillière et fils, éd., Paris, 328 p. — 1958. Postharvest physiology of fruits. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **9**, p. 385-416.

Van Sumere (C. F.), 1960. — Germination inhibitors in plant material. In *Phenolics in Plants in Health and Disease*. J. B. Pridham, éd., Pergamon Press, New York., p. 25-34.

Varasova (N. N.), 1956. — Peculiarities of the seeds of the common ash in relation to different geographic origin (en russe). *Acta Inst. Bot. Acad. Sci. U. R. S. S., Ser. IV, Bot. Exp.*, **11**, p. 370-387.

Varga (M. B.), 1957. — Examination of growth inhibiting substances separated by paper chromatography in fleshy fruits. II. Identification of the substances of growth inhibitory zones on chromatograms. *Acta Biol. Szeged.*, **3**, p. 213-223.

Vegis (A.), 1961. — Samenkeimung und vegetative Entwicklung der Knospen. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **16**, p. 168-298. — 1964. Dormancy in higher plants. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **15**, p. 185-224. — 1965. Ruhezustände bei höheren Pflanzen, Induktion, Verlauf und Beendigung : Uebersicht, Terminologie, allgemeine Probleme. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **15**, 2, p. 499-533.

Veh (R. v.), 1936. — Eine neue Methode zur Anzucht von Sämlingen unabhängig von Ruheperioden und Jahreszeit (bei Äpfeln, Birnen, Quitten, Pflaumen, Kirschen). *Züchter*, **8**, p. 145-151. — 1939. Ueber Entwicklungsbereitschaft und Wüchsigkeit der Embryonen von Apfel, Pfirsich u. a. *Züchter*, **11**, p. 249-255.

Villiers (T. A.) et Wareing (P. F.), 1960. — Interaction of growth inhibitor and a natural germination stimulator in the dormancy of *Fraxinus excelsior*. *Nature*, **185**, p. 112-114.

Visser (T.), 1954. — After-ripening and germination of apple seeds in relation to the seed-coats. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.*, **C 57**, p. 175-185. — 1956 *a*. The role of seed coats and temperature in after-ripening, germination and respiration of apple seeds. *Proc. kon. med. Akad. Wet.*, **C 59**, p. 211-222. — 1956 *b*. Som observations on respiration and secondary dormancy in apple seeds. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.*, **C 59**, p. 314-324. — 1956 *c*. The growth of apple seedlings as affected by after-ripening, seed maturity and light. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.*, **C 59**, p. 325-334.

Voisenat (P.), 1957. — Remarques au sujet de la germination paresseuse des semences de Céréales. *Bull. Soc. Franç. Physiol. Végét.*, **3**, 4, p. 130.

Walker (J. R. L.), 1962. — Studies on the enzymic browning of apple fruit. *N. Z. J. Sci.*, **5**, p. 316-324. — 1964. Studies on the enzymic browning of apples. II. Properties of apple polyphenoloxidase. *Austr. J. Biol. Sci.*, **17**, p. 360-371.

Wareing (P. F.), 1965. — Endogenous inhibitors in seed germination and dormancy. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **15**, 2, p. 909-924.

Wareing (P. F.) et Foda (H.), 1957. — Growth inhibitors and dormancy in *Xanthium* seed. *Physiol. Plant.*, **10**, p. 266-280.

Went (F. W.), 1948. — Ecology of desert plants. I. Observations on germination in the Joshua National Monument. California. *Ecol.*, **29**, p. 242-253.

Weurman (C.) et Swain (T.), 1953. — Chlorogenic acid and the enzymic browning of apple and pear. *Nature*, **172**, p. 678-679.

Williams (A. H.), 1960. — The distribution of phenolic compounds in apple and pear trees. In *Phenolics in Plants in Health and Disease*. J. B. Pridham, éd., Pergamon Press, New York, p. 3-7.

Wright (J. W.), 1945. — Influence of size and portion of cone on seed weight in eastern white pine. *J. Forest.*, **43**, p. 817-819.

Yoshida (S.), 1960. — Biochemistry of germination and low-temperature stratification of *Abies sachalinensis* seeds. I. On the change of auxin and inhibitor in the seeds during low-temperature stratification. *Nippon Ringaku Kaishi*, **47**, p. 259-262.

Yudin (V. G.), 1956. — Biology of maple seed germination (en russe). *Acta Inst. Bot. Acad. Sci. U. R. S. S., ser. IV, Bot. exp.*, **11**, p. 351-369.

Zagaja (S. W.) et Czapski (J.), 1962. — Some effects of low temperature treatments on phosphorus uptake by immature apple embryos. *Hort. Res.*, vol. **2**, p. 13-18.

DEUXIÈME THÈSE

DONNÉES EXPÉRIMENTALES SUR LA PERMÉABILITÉ AUX GAZ DES ENVELOPPES SÉMINALES SÈCHES ET IMBIBÉES

Vu et approuvé :

Paris, le 12 avril 1967.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Marc Zamansky.

Vu
et permis d'imprimer :

Le Recteur
de l'Académie de Paris,
Jean Roche.

Soulisse et Cassegrain, Imp., Niort. Dépôt légal : 4e trim. 1967. N° d'ordre : 792.
Masson et Cie, Edit., Paris. Dépôt légal : 4e trim. 1967. N° d'ordre : 4307.
(Printed in France.)